

図1. 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の有所見割合、性、年齢別、新規・更新別

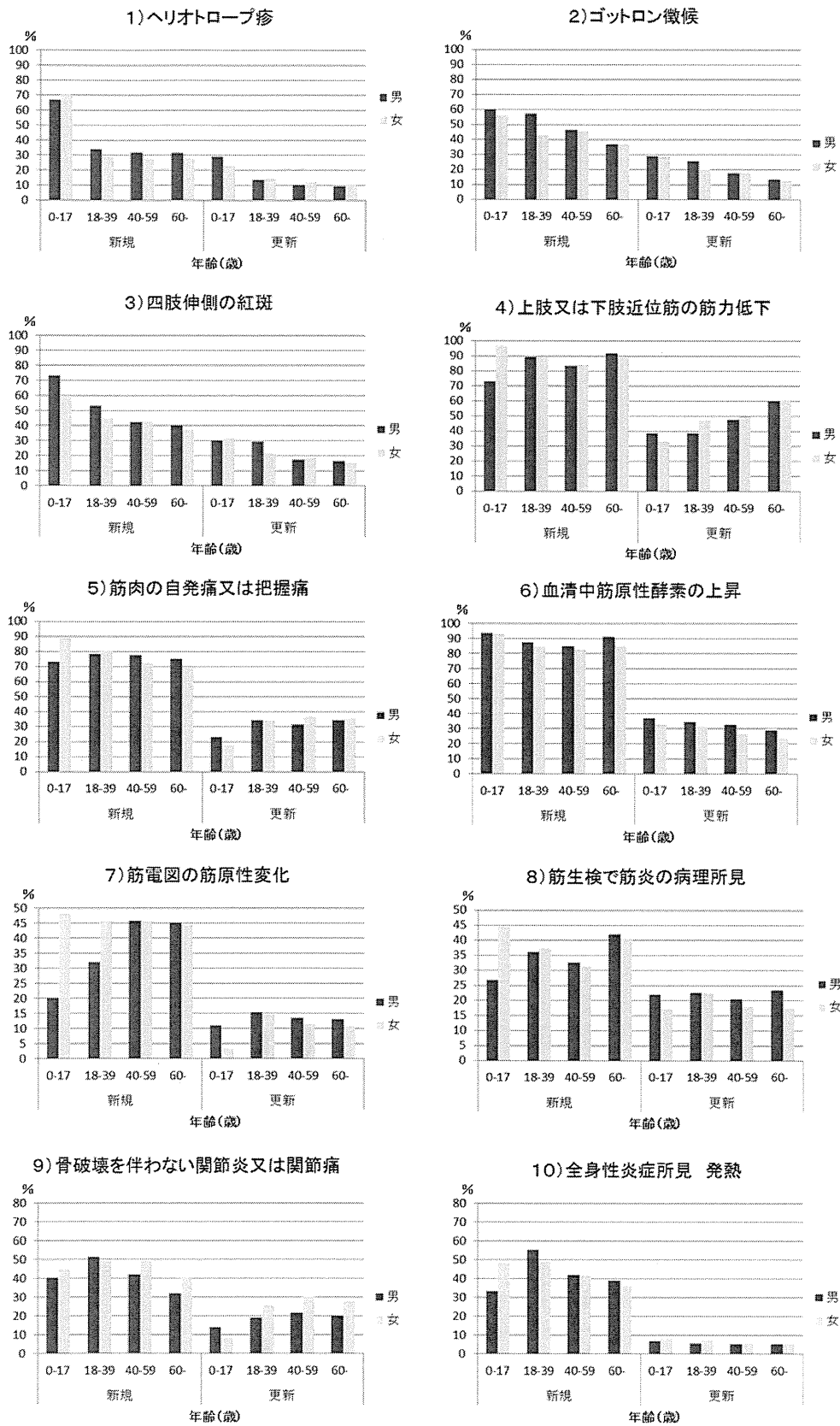


図1 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の有所見割合、性、年齢別、新規・更新別(つづき)

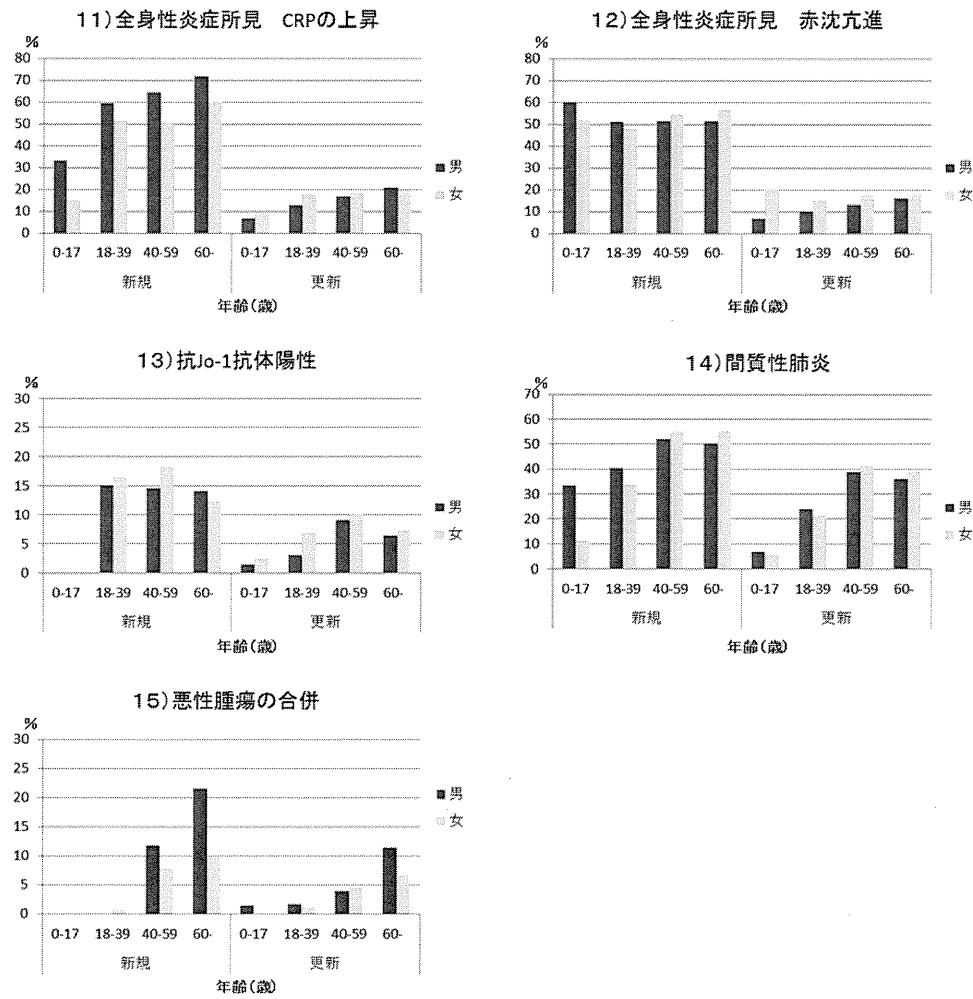


図2. 抗Jo-1抗体陽性/陰性別の間質性肺炎の合併率 (抗Jo\_1抗体 陽性n:1163 陰性n:7633)

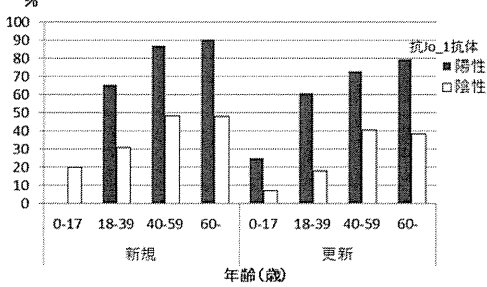


図3. 皮膚所見の有無別の間質性肺炎の合併率 (皮膚所見 ありn:3764 なしn:9946)

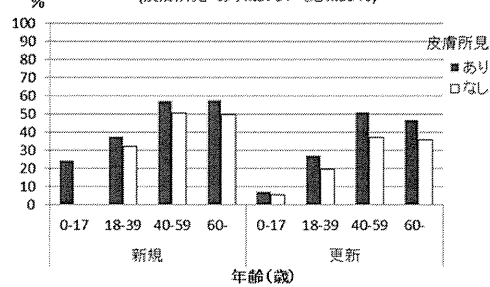


図4. 抗Jo-1抗体陽性/陰性別の悪性腫瘍の合併率 (抗Jo\_1抗体 陽性n:1163 陰性n:7633)

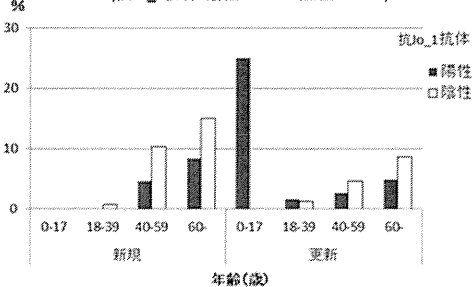


図5. 皮膚所見の有無別の悪性腫瘍の合併率 (皮膚所見 ありn:3764 なしn:9946)

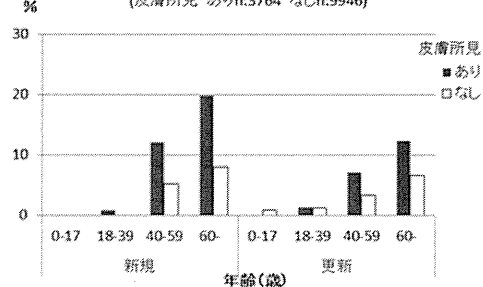


図6. 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の有所見割合、発病後期間別、性別

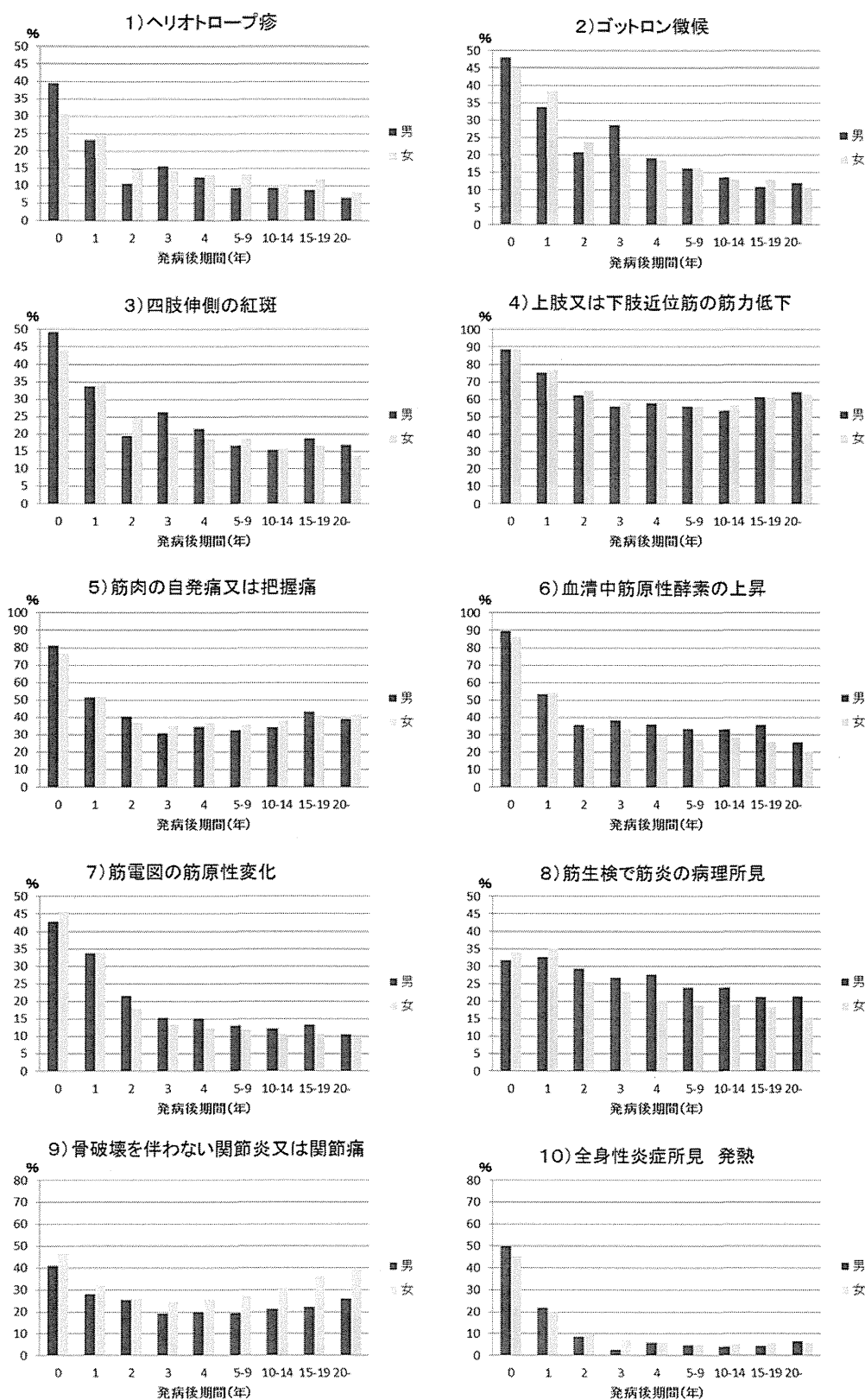


図6. 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の有所見割合、発病後期間別、性別(つづき)

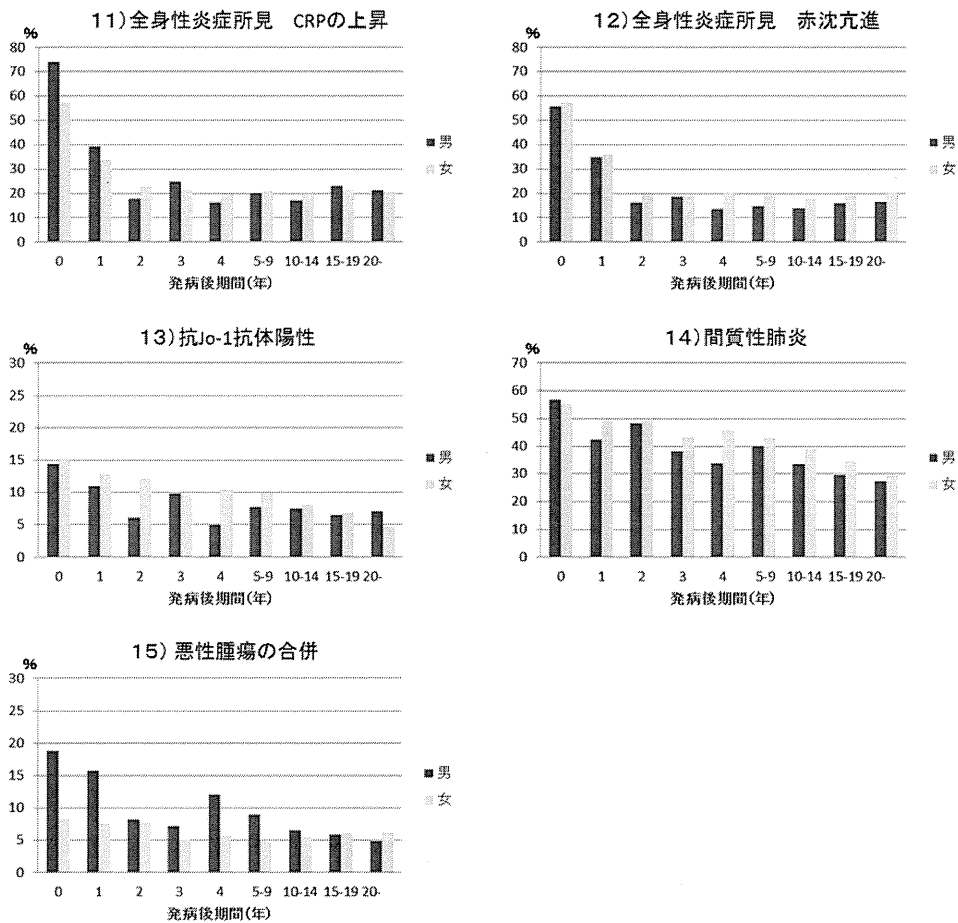


図7. 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の治療状況、性、年齢別、新規・更新別

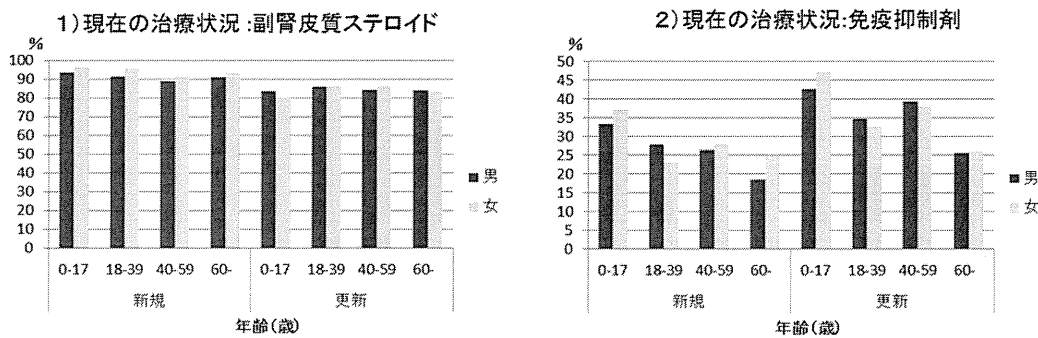


図8. 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の治療状況、発病後期間別、性別

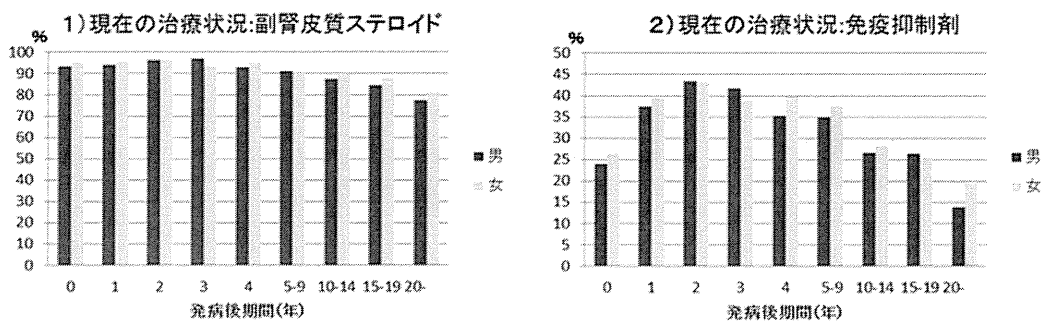
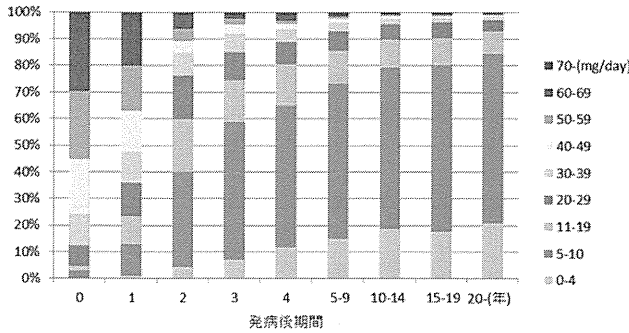


図9. 多発性筋炎・皮膚筋炎 2009 年度受給者の治療状況、副腎皮質ステロイド投与量(mg/日)、発病後期間別(プレドニゾロン換算最大量 mg/日、副腎皮質ステロイド投与あり) 11,662 人のうち、投与量と発病後期間の情報ありの 10,254 人の結果)



※追補: 昨年度の分担研究報告書における表の訂正について

自己免疫疾患に関する調査研究平成 23 年度総括・分担研究報告書 p45 において報告した「表 10 診断基準を満たす／満たさない受給者数、新規・更新別、性、年齢別、2009 年度受給者」の一部の数値に間違いがあったので、ここに訂正した表を、表 9 として示す。

表9. 診断基準\*を満たす/満たさない受給者数、新規・更新別、性、年齢別、2009年度受給者

	計	新規						更新						
		満たさない		DM基準		PM基準		満たさない		DM基準		PM基準		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
総数	1,459	225	15.4	632	43.3	602	41.3	12,251	9,545	77.9	942	7.7	1,764	14.4
性別														
男	461	66	14.3	205	44.5	190	41.2	3,195	2,505	78.4	245	7.7	445	13.9
女	998	159	15.9	427	42.8	412	41.3	9,056	7,040	77.7	697	7.7	1,319	14.6
年齢														
0-17	42	5	11.9	28	66.7	9	21.4	196	171	87.2	18	9.2	7	3.6
18-39	181	23	12.7	88	48.6	70	38.7	1,097	855	77.9	112	10.2	130	11.9
40-59	501	86	17.2	212	42.3	203	40.5	4,007	3,084	77.0	327	8.2	596	14.9
60-	735	111	15.1	304	41.4	320	43.5	6,951	5,435	78.2	485	7.0	1,031	14.8

\*: 1992年の厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班の診断基準(参考表)  
DM(皮膚筋炎)は、(1)の皮膚症状の(a)~(c)の1項目以上を満たし、かつ(2)から(9)までの4項目以上を満たすもの  
PM(多発性筋炎)は、(2)~(9)の項目中4項目以上を満たすもの

表9の参考表. 1992年の厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班の診断基準

1 診断基準項目

(1) 皮膚症状

- (a) ヘリオトロープ疹: 両側又は片側の眼瞼部の紫紅色浮腫性紅斑
- (b) ゴットロンの徴候: 手指関節背面の角質増殖や皮膚萎縮を伴う紫紅色紅斑
- (c) 四肢伸側の紅斑: 肘、膝関節などの背面の軽度隆起性の紫紅色紅斑

(2) 上肢又は下肢の近位筋の筋力低下

(3) 筋肉の自発痛又は把握痛

(4) 血清中筋原性酵素(クレアチンキナーゼ又はアルドラーゼ)の上昇

(5) 筋電図の筋原性変化

(6) 骨破壊を伴わない関節炎又は関節痛

(7) 全身性炎症所見(発熱, CRP 上昇, 又は赤沈亢進)

(8) 抗Jo-1 抗体陽性

(9) 筋生検で筋炎の病理所見: 筋線維の変性及び細胞浸潤

2 診断基準

皮膚筋炎: (1)の皮膚症状の(a)~(c)の1項目以上を満たし、かつ経過中に(2)~(9)の項目中4項目以上を満たすもの

多発性筋炎: (2)~(9)の項目中4項目以上を満たすもの

3 鑑別診断を要する疾患

感染による筋炎, 薬剤誘発性ミオパチー, 内分泌異常に基づくミオパチー, 筋ジストロフィーその他の先天性筋疾患

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

皮膚筋炎における microRNA 解析

研究分担者 神人正寿 熊本大学医学部皮膚科 講師

**研究要旨**

蛋白をコードしていない non coding RNA の一種で平均22 塩基程度の長さを持つ microRNA は target となる様々な mRNA の 3' UTR の相補的配列に結合し 遺伝子翻訳を阻害する事で 遺伝子発現調節をしている。近年の研究により microRNA が様々な疾患の病態に関与していることが明らかになっているが、多発筋炎/皮膚筋炎における働きは未だ分かっていない。

我々は皮膚筋炎に特徴的な microRNA-target の組み合わせを見いだすために、microRNA array を用いた皮膚筋炎皮膚での microRNA 発現プロファイルと質量分析を用いた皮膚筋炎皮膚での蛋白発現パターンを比較し、皮膚筋炎皮膚における miR-124 の低下と Versican・Aggrecan の増加の組み合わせに着目した。Versican および Aggrecan は多数のムチンを結合し保持するコア蛋白であり、免疫染色では正常皮膚と比べて特に皮膚筋炎皮膚の表皮での発現が増加していた。そこでこれらのコア蛋白に結合しうるムチンの組成を調べたところ、皮膚筋炎皮膚では正常皮膚に比べてヒアルロン酸の分子量が低く、さらにヘパラン硫酸の硫酸化アミノ基二糖が減少し、6 硫酸/硫酸化アミノ基二糖が増加していた。皮膚筋炎皮膚では miR-124 の減少・コア蛋白の発現増加を通じてムチンの組成が異なる可能性があり、その意義は不明であるが、皮膚筋炎に特異的な変化である可能性がある。

**A. 研究目的**

ポストゲノム時代の生命科学研究における最も重要な領域の一つがエピジェネティクスと呼ばれる、DNA への後天的な修飾による遺伝子発現の制御機構の研究である。現在までにヒストン修飾や DNA メチル化などの複数のシステムがクロマチン動態の変化を介してエピジェネティクスを制御している事が明らかになっている。さらに、これらと共に遺伝子発現に影響する因子として、microRNA などの non-coding RNA による RNA サイレncing も注目されている。タンパク質をコードしていない non-coding RNA の一種で平均22 塩基程度の長さを持つ microRNA は様々な target mRNA の 3' untranslated region (UTR) の相補的配列に結合し 遺伝子の翻訳を阻害する事で 遺伝子発現調節をしている。ヒトゲノムには2,000種類近くの microRNA が存在し、60%以上の遺伝子を制御しようと考えられている。近年の研究により、microRNA が生体内で細胞増殖や分化を制御する事で各疾患において重要な働きをしていることが明らかになっている。我々は昨年度の班会議にて、皮膚筋炎・筋無症候性皮膚筋炎における Gottron 丘疹の表皮では miR-223 の発現が減少しており、target である PKC-epsilon の発現増加を通じて Gottron 丘疹にみられる表皮肥厚の原因となっている可能性を報告した。その後、さらに我々は皮膚筋炎に特徴的な microRNA-target の組み合わせを見いだすために、microRNA array を用いた皮膚筋炎皮膚での microRNA 発

現プロファイルと質量分析を用いた皮膚筋炎皮膚での蛋白発現パターンを比較した。

**B. 研究方法**

miRNeasy FFPE kit (Qiagen) を用いて皮膚のパラフィン切片から total microRNA を抽出し、SABioscience のシステムを用いて real-time PCR microRNA array (SA Bioscience) を行った。皮膚組織より抽出した蛋白は isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ) 法を用いて質量解析を行った。microRNA の target の予測には web 上のプログラムである Target scan (<http://www.targetscan.org/>) を使用した。Target の mRNA および蛋白の発現は real-time PCR および免疫染色を用いて評価した。ヒアルロン酸・コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸など各ムチンの量は ELISA 法や HPLC を用いて測定した。  
(倫理面への配慮)

本研究は Declaration of Helsinki に基づき、倫理委員会の審査を経て、患者および健常対象者の同意を得て行った。

**C. 研究結果**

我々は正常皮膚と皮膚筋炎皮膚を用いた microRNA array と質量分析の結果から、正常皮膚に比べ皮膚筋炎皮膚で増減している microRNA と蛋白をピックアップし、その中で microRNA-target として関連しうるものを Target scan を用いて検索した。その結果、皮膚筋炎皮膚における miR-124 の低下と Versican・Aggrecan の増加の組み合わせに着目した。Versican および Aggrecan

は多数のムチンを結合し保持するコア蛋白であり、免疫染色では正常皮膚やエリテマトーデス皮膚と比べて特に皮膚筋炎皮膚の表皮での発現が増加していた(図1)。一方、正常皮膚やエリテマトーデス皮膚と比較した場合 Versican や Aggrecan の mRNA 発現は皮膚筋炎皮膚で増加傾向ではあったものの統計学的な有意差は得られなかった(図2)。miR-124 はこれらの分子の mRNA 発現ではなく翻訳を阻害して発現を制御していると考えられる。そこで次にこれらのコア蛋白に結合しうるムチンの組成を調べたところ、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸の量は正常皮膚、エリテマトーデス皮膚および皮膚筋炎皮膚で有意差を認めなかったものの(図3)、皮膚筋炎皮膚では正常皮膚やエリテマトーデス皮膚に比べてヒアルロン酸の分子量が低く(図4)、さらにヘパラン硫酸の硫酸化アミノ基二糖が有意に減少し、6 硫酸/硫酸化アミノ基二糖が有意に増加していた(図5)。

#### D. 考察

本研究で得られた知見をまとめると、

- ・皮膚筋炎皮膚では miR-124 が減少し、バーシカン・アグリカン蛋白が増加しているが、mRNA レベルでは有意差を認めなかった。
- ・皮膚筋炎皮膚では各種ムチンの含有量に有意差はみられなかった。
- ・しかし、皮膚筋炎皮膚ではヒアルロン酸の分子量が低い傾向があった。
- ・さらに皮膚筋炎皮膚ではヘパラン硫酸の硫酸化アミノ基二糖が減少し、6 硫酸/硫酸化アミノ基二糖が増加していた。皮膚筋炎ではなんらかの原因によりヘパラン硫酸の修飾が硫酸化アミノ基二糖から6 硫酸/硫酸化アミノ基二糖に変化している可能性がある。

ムチンは強い親水性を持ち皮膚筋炎皮膚に見られる浮腫の原因と考えられるとともに、ムチン自体が CD44 などのレセプターを通して炎症を惹起している可能性がある。

皮膚筋炎皮膚では miR-124 の減少・コア蛋白の発現増加を通じてムチンの組成が異なる可能性があり、その意義は不明であるが、皮膚筋炎に特異的な変化である可能性がある。筋無症候性皮膚筋炎で筋症状および肺症状を伴わない例では皮疹のみから診断を行う必要があり、時に診断に苦慮する。またエリテマトーデスと皮膚筋炎の皮疹は病理組織学的にも類似している事も多く、鑑別が困難なことがある。microRNA、target そしてムチンがそれぞれ単独で皮膚筋炎に特異的な変化を来している可能性は低いと思われるが、microRNA-target-ムチンの発現パターンを組み合わせることにより筋無症候性皮膚筋炎の早期発見やエリテマトーデスとの鑑別に有用である可能性が示唆された。今後、このような観点で皮膚に特化した基礎研究を継続する必要がある。

#### E. 結論

皮膚筋炎皮膚では miR-124 の減少・コア蛋白の発現増加を通じてムチンの組成が異なる可能性があり、その意義は不明であるが、皮膚筋炎に特異的な microRNA-target-ムチンの組み合わせが存在する可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
自己免疫疾患に関する調査研究  
平成 24 年度 班会議

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

図の説明

図 1; 免疫染色による正常皮膚・皮膚筋炎 (DM) 皮膚及びエリテマトーデス (SLE) 皮膚組織における Aggrican および Versican 蛋白発現の検出

図 2: real-time PCR による正常皮膚・皮膚筋炎 (DM) 皮膚及びエリテマトーデス (SLE) 皮膚組織における Aggrican および Versican mRNA 発現の検出

dcSSc; diffuse cutaneous systemic sclerosis, lcSSc; limited cutaneous systemic sclerosis

図 3: 正常皮膚・皮膚筋炎 (DM) 皮膚及びエリテマトーデス (SLE) 皮膚組織におけるヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸及びヘパラン硫酸の含有量

図 4: 正常皮膚・皮膚筋炎 (DM) 皮膚及びエリテマトーデス (SLE) 皮膚組織におけるヒアルロン酸の分子量の比較

図 5: 正常皮膚・皮膚筋炎 (DM) 皮膚及びエリテマトーデス (SLE) 皮膚組織におけるヘパラン硫酸中の硫酸化アミノ基二糖および6硫酸/硫酸化アミノ基二糖の含有量の比較

図 1

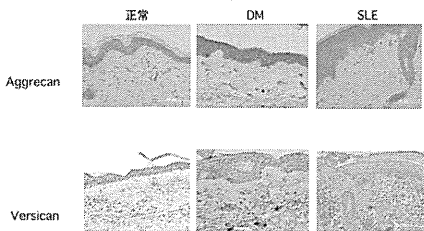


図 2

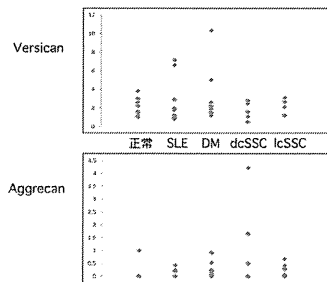


図 3

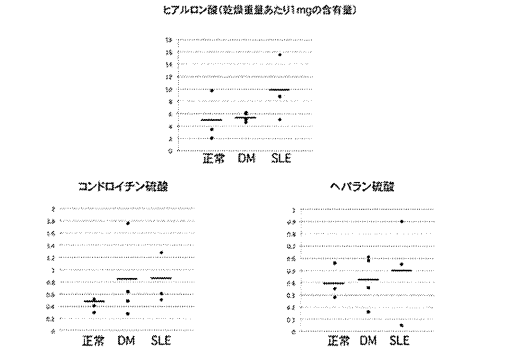


図 4

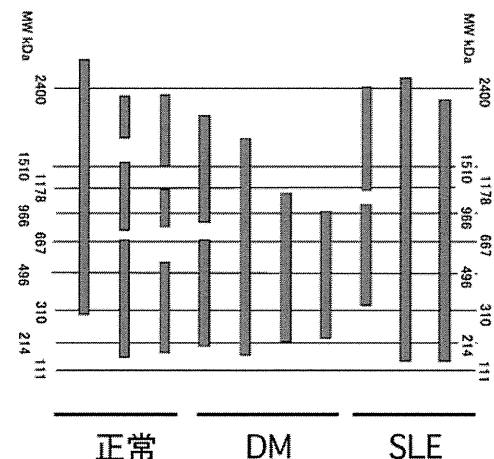
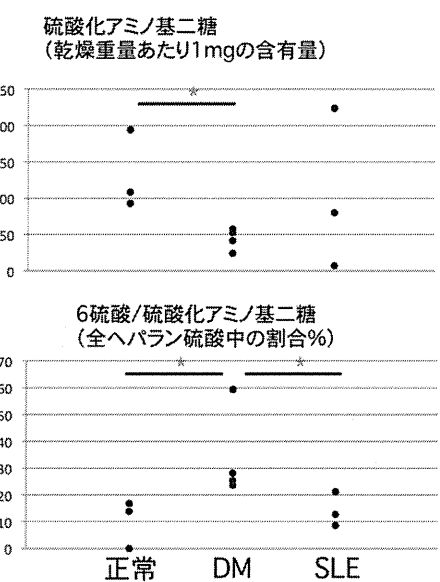


図 5





厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

皮膚筋炎における自己抗体の臨床的意義に関する研究

研究分担者	藤本 学	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	准教授
研究協力者	松下 貴史	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	助教
研究協力者	濱口 儒人	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	講師
研究協力者	長谷川 稔	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	講師
研究協力者	竹原 和彦	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	教授

研究要旨

皮膚筋炎の特異的自己抗体である抗 nuclear matrix protein -2 (NXP-2) 抗体と抗 small ubiquitin-like modifier activating enzyme (SAE) 抗体の臨床的意義について検討した。対象はDM患者456例であり、373例はBohan & Peterの診断基準を満たし、残り83例はSontheimerによるclinically amyopathic DMの診断基準を満たしていた。また11例が小児DM、445例が成人DMであった。抗NXP-2抗体は、小児DM2例（18%）、成人DM7例（1.6%）に陽性であり、成人PM1例（1.6%）にも陽性であったが、その他の疾患では認められなかった。成人DM/PM8例のうち、4例に悪性腫瘍の合併が認められ、DM/PMが発症した時点で進行癌であった症例が多かった。一方、抗SAE抗体も成人DM7例（1.6%）に陽性であったが、小児DMやPMには認められず、その他の疾患でもすべて陰性であった。抗SAE抗体は、皮膚症状から発症する例が多く、間質性肺疾患を高率に合併していたほか、顕著な嚥下障害を呈した例が散見された。抗NXP-2抗体および抗SAE抗体は筋炎の中で特徴的な臨床症状を有しており、その測定は診断及び予後・合併症の推測や治療方針の決定に有用と考えられた。

A. 研究目的

皮膚筋炎（dermatomyositis, DM）は、特徴的な皮膚症状及び筋症状を主徴とする膠原病であり、自己免疫がその発症機序に関与すると考えられている。DMでは、従来自己抗体の検出率は低率と考えられておいたが、近年複数の特異抗体が見出され、DMにおいても、自己抗体の解析は、その診断および治療方針の決定においてきわめて有用であると考えられるようになってきた。このような自己抗体には、抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体、抗 Mi-2 抗体、抗 melanoma differentiation antigen-5 (MDA5) 抗体（抗 CADM140 抗体）、抗 transcriptional intermediary factor-1 (TIF1) 抗体（抗 155/140 抗体）などがある。これらの自己抗体は、臨床症状と密接に関連することも知られており、例えば、抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体は、筋炎と間質性肺炎に加えて、発熱、レイノー現象、mechanic's handなどを呈する症候群を、抗 Mi-2 抗体は予後のよい定型的な DM を、抗 MDA5 抗体は急速進行性間質性肺炎をとともなう clinically amyopathic DM の病型を、抗 TIF1 抗体は小児 DM および成人悪性腫瘍合併 DM の病型をとりやすいことが明らかにされている。

近年明らかにされた抗 nuclear matrix protein 2 (NXP-2) 抗体（抗 MJ 抗体）および抗 small ubiquitin-like modifier activating enzyme (SAE) 抗体も、DM 患者血清に検出される自己抗体である。しかしながら、抗 NXP-2 抗体の成人例における臨床的特徴や両抗体の本邦患者におけるその臨床的特徴は明らかにされていない。そ

こで、われわれは本邦多施設共同研究により、多数の DM 例の検討を行い、抗 NXP-2 抗体および抗 SAE 抗体の臨床的相関を解析した。

B. 研究方法

対象は DM 患者 456 例であり、373 例は Bohan & Peter の診断基準を満たし、残り 83 例は Sontheimer による CADM の診断基準を満たしていた。またこのうちの 11 例が小児 DM、445 例が成人 DM であった。また、コントロールとして、多発性筋炎 (PM) 62 例、全身性エリテマトーデス 108 例、全身性強皮症 433 例を用いた。

これら患者の血清をもちいて、K562 細胞を基質として用いた免疫沈降法およびウエスタンブロット法により NXP-2 および SAE1/2 に対する反応性を検討し、さらにその臨床的相関を後ろ向きに検討した。K562 細胞はラジオアイソトープで標識あるいは標識せずに protein-A/G ビーズを用いた免疫沈降法により、血清中の抗体と反応する分子を沈降し、SDS-PAGE により展開した後、オートラジオグラフィあるいは、抗 NXP-2 または SAE ポリクローナル/モノクローナル抗体による Western blotting と化学発光を用いて反応性を検出した。

（倫理面への配慮）

本研究は金沢大学医薬保健研究域医学系の倫理委員会承認されている。

## C. 研究結果

抗 NXP-2 抗体は、小児 DM2 例 (18%)、成人 DM7 例 (1.6%) に陽性であり、成人 PM1 例 (1.6%) にも陽性であったが、その他のコントロール疾患では認められなかった。成人 DM/PM8 例のうち、4 例に悪性腫瘍の合併が認められ、成人例において悪性腫瘍合併 DM の病型に相関している可能性が示唆された。特に、DM/PM が発症した時点で進行癌であった症例が多かった。

一方、抗 SAE 抗体も成人 DM 7 例 (1.6%) に陽性であったが、小児 DM や PM には認められず、その他のコントロール疾患でもすべて陰性であった。抗 SAE 抗体は、皮膚症状から発症する例 (CADM) が多く、間質性肺疾患を高率に合併していた。そのほか、顕著な嚥下障害を呈した例が散見され、また全身症状を有する例が多かった。

## D. 考察

抗 NXP-2 抗体は、Oddis らによりはじめて記載された抗核抗体で、小児 DM に高率に陽性になる自己抗体として報告された。さらに Targoff らにより、対応抗原が NXP-2 であることが明らかにされた。小児 DM では 20-30% に陽性となるが、これまで成人例における検討は国内外で検討はなされていなかった。われわれの検討では、小児例は症例総数は少ないものの、欧米における頻度とほぼ同等に認められた。一方、成人例では小児例に比べてはるかに低率であったが、悪性腫瘍合併皮膚筋炎の血清学的マーカーとなる可能性が示唆された。

抗 SAE 抗体は、Betteridge らにより最近報告された抗核抗体であり、欧米例では、皮膚症状から発症すること、嚥下傷害が多いこと、発熱などの全身症状を伴いやすいことが示されている。欧米の成人 DM の統計 (9% に陽性) に比べてわれわれの本邦例の検討では低率であった。臨床的特徴は、欧米例と類似していたが、欧米例にみられない特徴として、間質性肺疾患の合併が認められた。間質性肺疾患は比較的軽症な例が多かった。

## E. 結論

近年報告された抗 NXP-2 抗体および抗 SAE 抗体は、DM/PM に特異性が高い自己抗体であることが本研究により確認された。また、これらの 2 抗体はいずれも特徴的な臨床症状との相関が認められたため、比較的 low frequency ではあるが、DM/PM の血清学的マーカーとして、DM の診断、分類、合併症・経過の予測などに有用なツールとなることが考えられた。今後、enzyme-linked immunosorbent assay などの簡便な測定法が確立・普及することが望まれる。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Fujimoto M, Matsushita M, Hamaguchi Y, Kaji K, Asano Y, Ogawa F, Yamaoka T, Fujikawa K, Tsukada T, Sato K, Echigo T, Hasegawa M, Takehara K. Autoantibodies to small ubiquitin-like modifier activating enzymes in Japanese patients with dermatomyositis: Comparison with a UK Caucasian cohort. *Ann Rheum Dis*. 2013;72:151-153.
2. Ichimura Y, Matsushita T, Hamaguchi Y, Kaji K, Hasegawa M, Tanino Y, Inokoshi Y, Kawai K, Kanekura T, Habuchi M, Igarashi A, Sogame R, Hashimoto T, Koga T, Nishino A, Ishiguro N, Sugimoto N, Aoki R, Ando N, Abe T, Kanda T, Kuwana M, Takehara K, Fujimoto M. Anti-NXP2 autoantibodies in adult patients with idiopathic inflammatory myopathies: possible association with malignancy. *Ann Rheum Dis*. 2012;71:710-713.
3. Koga T, Fujikawa K, Horai Y, Okada A, Kawashiri SY, Iwamoto N, Suzuki T, Nakashima Y, Tamai M, Arima K, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Ishimatsu Y, Mukae H, Kuwana M, Kohno S, Eguchi K, Aoyagi K, Kawakami A. The diagnostic utility of anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody testing for predicting the prognosis of Japanese patients with DM. *Rheumatology*, 2012;51:1278-84.
4. Ohashi M, Moriya C, Kanoh H, Kinomura Y, Terakura Y, Kasahara S, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Seishima M. Adult-onset Still's disease with dermatomyositis-like eruption. *J Dermatol*, 2012;39:958-60
5. Matsuura E, Ishiguro N, Katsumata Y, Urano W, Yamanaka H, Kondo M, Kuwana M, Kaji K, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Kawashima M. Two young-adult female cases of dermatomyositis with antibodies for transcriptional intermediary factor 1- $\gamma$ . *Eur J Dermatol*, 2012;22:668-71.
6. Fujimoto M. Dermatomyositis: myositis-specific autoantibodies and skin manifestations. *Clin Exp Neuroimmunol*, 2012;3:74-84.

### 2. 学会発表

1. Fujimoto M, Matsushita T, Hamaguchi Y, Kaji K, Hasegawa M, Takehara K. Autoantibodies to small ubiquitin-like modifier activating enzymes in Japanese patients with dermatomyositis. American College of Rheumatology / Association of Rheumatology Health Professionals (ACR /ARHP)2012 Annual Meeting, Nov. 2012, Washington D.C. USA

2. 藤本 学, 松下貴史, 長谷川稔, 竹原和彦 抗  
155/140抗体の対応抗原および臨床的相関の検討  
第56回日本リウマチ学会, 2012年4月, 東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

悪性腫瘍合併筋炎における臨床的・血清学的特徴に関する研究

研究分担者 三森 経世 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・教授  
研究協力者 中嶋 蘭 京都大学医学部附属病院免疫・膠原病内科・助教  
細野 祐司 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・大学院生

研究要旨

多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)では高率に筋炎特異的自己抗体が検出され、抗体によって特徴的な病態を呈する。筋炎と悪性腫瘍との関連はこれまでさまざまな報告があり、特に抗 p155/140 抗体陽性 DM は悪性腫瘍と密接に関連することが知られている。しかし、その他の筋炎特異的自己抗体全体での関連は明らかになっていない。今回我々は悪性腫瘍合併 PM/DM 症例を対象に臨床的特徴と筋炎特異的自己抗体との関連を追究した。悪性腫瘍と筋炎の診断時期の間隔が 0.5 年以内の同時期診断群と、0.5 年以上の間隔を持つその他の群の 2 群に分け臨床的・血清学的背景を比較したところ、同時期診断群では抗 p155/140 抗体が高頻度で、皮膚掻痒感を呈する症例が多く、悪性腫瘍の病気は 1 例を除く固形癌全例で進行癌であった。その他の群では抗 ARS 抗体が高頻度となり、悪性腫瘍の病気もさまざまであった。抗体によって悪性腫瘍の合併頻度・時期が異なり、筋炎特異的自己抗体の測定が悪性腫瘍をフォローする上で重要であることが示唆された。

A. 研究目的

多発性筋炎・皮膚筋炎 (PM/DM) では高率に筋炎特異的自己抗体が検出され、抗体によって特徴的な病態を呈する。筋炎と悪性腫瘍との関連はこれまでさまざまな報告があり、近年抗 p155/140 抗体陽性 DM は悪性腫瘍と密接に関連することが知られているが、その他の特異的自己抗体との関連は明らかになっていない。日本人の悪性腫瘍合併 PM/DM の臨床的特徴と筋炎特異的自己抗体との関連を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象： 2005-2012 年に当科で診療した PM88 例および CADM を含む DM 患者 119 例計 207 例を対象にした。
2. 自己抗体測定法： 自己抗体の検出は、

抗 ARS 抗体 (Jo-1、OJ、EJ、KS、PL-7、PL-12)、抗 SRP 抗体は HeLa 細胞を用いた RNA 免疫沈降法、抗 p155/140 抗体、抗 MDA5 抗体、抗 Mi-2 抗体、抗 PM-Scl 抗体は<sup>[35S]</sup>メチオンin標識 HeLa 細胞を用いた免疫沈降法でそれぞれ検出を行った。

3. 臨床的解析： 悪性腫瘍を発症した PM/DM 30 症例を筋炎と悪性腫瘍の診断時期の間隔が 0.5 年以内の Group A 群 (n=14) と 0.5 年以上の Group B 群 (n=16) に分け、臨床的・血清学的特徴を後ろ向きに比較した。

(倫理面への配慮)

患者血清の採取にあたり、京都大学医の倫理委員会の承認を得て、患者よりインフォームドコンセントを取得して行った。また、個人情報保護の観点から、匿名符号を用いて実

験及び解析を行った。

### C. 研究結果

PM 88 症例中 10 例 (11.6%、男女比 6 : 4)、DM 119 例中 20 例 (16.8%、男女比 6 : 14) 計 207 症例中 30 症例 (14.5%) に悪性腫瘍の合併または既往を認めた。各抗体陽性例中の悪性腫瘍合併頻度の程度は、抗 ARS 抗体 16% (13/79 例、うち Jo-1: 3/25、EJ: 2/19、PL-7: 4/15、PL-12: 2/ 8、OJ: 1/ 7、KS: 1/5 例)、抗 p155/140 抗体 69% (11/16 例)、抗 SRP 抗体 10% (2/20 例)、抗 MDA5 抗体 2.6% (1/39 例)、陰性および未知の抗体 8.1% (3/37 例) となっており、抗 p155/140 抗体陽性例では高頻度に悪性腫瘍の合併を認めた。

悪性腫瘍発症筋炎患者における自己抗体は抗 p155/140 抗体が 37% (11/30 例) を占める一方で抗 ARS 抗体も 43% (13/30 例) と高頻度であった (図 1)。

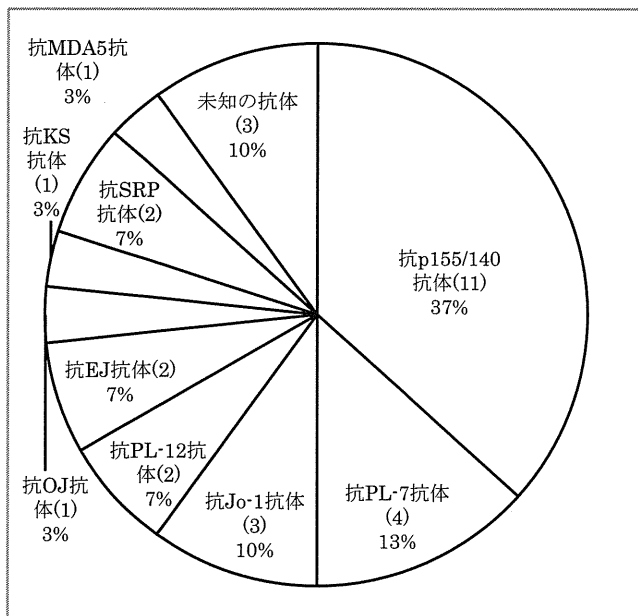


図 1. 悪性腫瘍発症筋炎症例における自己抗体の内訳

PM/DM と悪性腫瘍との診断時期の間隔が 0.5 年以内の同時診断群 (Group A) 14 例と 0.5 年以上間隔を有するその他の群 (Group B)

16 例の 2 群に分け比較すると、自己抗体の内訳は Group A では抗 p155/140 抗体が 72% と高頻度であった一方で (図 2)、Group B では同抗体はわずか 6% にとどまり、むしろ抗 ARS 抗体が 68% と高頻度であった (図 3)。

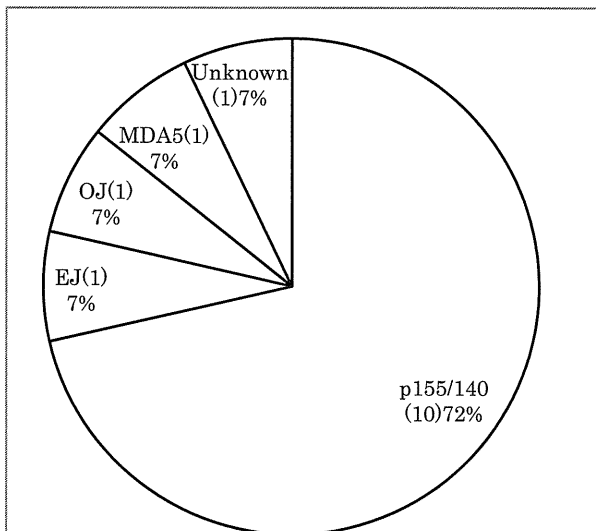


図 2. Group A における自己抗体の内訳

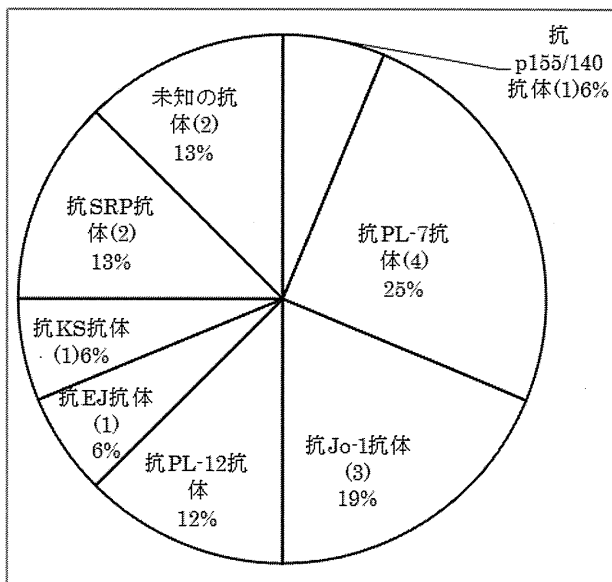


図 3. Group B における自己抗体の内訳

Group A 群では、Group B 群と比較して DM が有意に多く、皮膚搔痒感を伴う症例が多く認められた。また、明らかな有意差は認めないものの、Group A では男性優位である一方で Group B 群では逆転しており、また間質性

肺炎の合併頻度も低い傾向にあった(表1)。

表1. 各群における臨床的特徴の比較

	Group A (14例)	Group B (16例)	有意差 (P)
平均年齢	63歳	56.6歳	0.1512
男女比	9:5	5:11	0.0704
DM:PM	12:2	8:8	<b>0.0384</b>
間質性肺炎	3 (21.4%)	9 (56.2%)	0.0521
嚥下困難	7 (50%)	4 (25%)	0.1563
皮膚搔痒感	11 (86%)	4 (25%)	<b>0.0034</b>
CK値(IU/l)	1976±2520	1170±1043	0.1592

悪性腫瘍の病期は、Group Aでは悪性大腸ポリープの1例を除くリンパ腫以外の全ての固形癌でStageⅢ以上の進行癌である一方(表2)、Group BではStageⅠ～Ⅳとさまざまであった(表3)。

悪性腫瘍の種類については両群間で明らかな差は認めず、また抗体と特定の悪性腫瘍との関連も認められなかった。

表2. Group Aにおける自己抗体と悪性腫瘍

PM/DM	自己抗体	悪性腫瘍の種類	Stage
DM	p155/140	肺癌	Ⅲb
DM	p155/140	肺癌	Ⅳ
DM	p155/140	肺癌	Ⅳ
DM	p155/140	胃癌	Ⅲa
DM	p155/140	胃癌	Ⅲa
DM	p155/140	子宮体癌	Ⅳ
DM	p155/140	乳癌	Ⅲa
DM	p155/140	S状結腸癌	Ⅲa
DM	p155/140	リンパ腫	Ⅰ
DM	p155/140	リンパ腫	Ⅰ
DM	OJ	精巣癌	Ⅲa
DM	MDA5	直腸癌	Ⅰ
PM	未知の抗体	肺癌	Ⅲa
PM	PL-12	肺癌	Ⅲa

#### D. 考察

悪性腫瘍合併筋炎は、発症間隔が0.5年以内の同時期診断群と0.5年以上の間隔を有する群では、異なる臨床的・血清学的特徴が示

された。

同時期診断群では抗p155/140抗体が72%と高

表3. Group Bにおける自己抗体と悪性腫瘍

PM/DM	自己抗体	悪性腫瘍の種類	Stage	診断間隔(年)
DM	p155/140	肺癌	Ⅲ	+2.1
PM	SRP	肺癌	Ⅳ	+21
PM	SRP	大腸癌	Ⅳ	+5.8
PM	Jo-1	リンパ腫	Ⅳ	+14
PM	Jo-1	胃癌	Ⅰ	+2.2
PM	Jo-1	大腸癌	Ⅲ	+9
DM	PL-7	乳癌	Ⅰ	+8
PM	PL-7	甲状腺癌	Ⅰ	+2
DM	PL-7	大腸癌	Ⅰ	-4
DM	PL-7	前立腺癌	Ⅲ	-2.1
PM	KS	肺癌	Ⅳ	-1.2
DM	PL-12	甲状腺癌	Ⅰ	+9
DM	EJ	乳癌	Ⅰ	-25
DM	EJ	子宮頸癌	Ⅰ	+15
PM	未知の抗体 A	胃癌	Ⅲ	+4
DM	未知の抗体 A	大腸癌	Ⅲ	+11

頻度に検出され、同抗体陽性症例は全例がDM・進行癌であった。この群が真の悪性腫瘍関連筋炎と考えられる。抗p155/140抗体陽性筋炎では筋炎診断時に特に入念な悪性腫瘍検索が勧められる。

PM/DMと悪性腫瘍との診断時期が0.5年以上の間隔を有する群では、DM/PM症例ともにみられ、抗ARS抗体が68%と高頻度であった。筋炎診断から長期間経過後に悪性腫瘍を発症する例が多く、悪性腫瘍関連筋炎というよりは、むしろ筋炎や間質性肺炎に対する強力な免疫抑制薬治療の影響により悪性腫瘍が発症している可能性が示唆された。

#### E. 結論

悪性腫瘍を合併する筋炎は診断時期により2つの群に分けられる。PM/DMの悪性腫瘍合併を推察する上で、筋炎特異的自己抗体の測定は重要であり、特に抗p155/140抗体陽性例では筋炎診断時に入念な悪性腫瘍の検索が必要である。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Mimori T, Nakashima R, Hosono Y: Interstitial lung disease in myositis: Clinical subsets, biomarkers, and treatment. *Curr Rheumatol Rep* 14(3):264-74, 2012.
- 2) Imura Y, Shirai Y, Nojima T, Nakashima R, Yamagata H, Miyachi K, Yoshifuji H, Kawabata D, Ohmura K, Usui T, Fujii T, Mimori T: NEFA/nucleobindin-2 is a target autoantigen of the anti-Wa antibody and is associated with transfer RNA. *Mod Rheumatol*. 22(5):685-94, 2012.
- 3) Kunimasa K, Arita M, Nakazawa T, Tanaka M, Tsubouchi K, Konishi S, Fukuda Y, Saigusa M, Nakagawa H, Ubukata S, Korogi Y, Fujii T, Mimori T, Ishida T: The clinical characteristics of two anti-OJ (anti-isoleucyl-tRNA synthetase) autoantibody-positive interstitial lung disease patients with polymyositis/dermatomyositis. *Intern Med*. 51(24):3405-10, 2012.
- 4) Muro Y, Sugiura K, Nakashima R, Mimori T, Akiyama M: Low prevalence of anti-DFS70/LEDGF antibodies in patients with dermatomyositis and other systemic autoimmune rheumatic diseases. *J Rheumatol*. 40(1):92-3, 2013.
- 5) Shoji T, Bando T, Fujinaga T, Chen F, Sasano H, Yukawa N, Mimori T, Date H: Living-donor lobar lung transplantation for rapidly progressive interstitial pneumonia associated with clinically amyopathic dermatomyositis: report of a case. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 61(1):32-4, 2013.
- 6) Tanizawa K, Handa T, Nakashima R, Kubo T, Hosono Y, Aihara K, Ikezoe K, Taguchi Y, Hatta K, Oga T, Chin K, Nagai S, Mimori T, Mishima

M: The prognostic value of HRCT in myositis-associated interstitial lung disease. *Respir Med*, in press, 2013.

7) 細野祐司、中嶋蘭、三森経世：抗MDA5抗体と皮膚筋炎．臨床免疫・アレルギー科 59(1):110-114, 2013.

8) 中嶋蘭、藤井隆夫、三森経世：自己免疫疾患の新規自己抗体－新しい筋炎特異的抗体．Pharma Medica 31(406):31-35, 2013.

### 2. 学会発表

1) 細野祐司、中嶋蘭、三森経世ほか：悪性腫瘍合併多発性筋炎(PM)・皮膚筋炎(DM)の臨床的および血清学的特徴の検討。第40回日本臨床免疫学会、東京、2012年9月27-29日

2) 中嶋蘭、細野祐司、三森経世ほか：抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体症候群を診断するための新規 ELISA の開発。第40回日本臨床免疫学会、東京、2012年9月27-29日

3) Hosono Y, Nakashima R, Mimori T, et al: Clinical and Serological Associations of Malignancy in Adult Patients with Polymyositis and Dermatomyositis. The 76th Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology, Washington DC, Nov. 10-15, 2012.

4) Nakashima R, Hosono Y, Mimori T, et al: Clinical usefulness of a new enzyme-linked immunosorbent assay system for detecting autoantibodies to aminoacyl-tRNA synthetases: multicenter study in myositis and interstitial pneumonia. The 76th Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology, Washington DC, Nov. 10-15, 2012.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

皮膚筋炎患者における疾患マーカー自己抗体の例外的併存性に関する研究

研究分担者 室 慶直 名古屋大学大学院医学系研究科 皮膚結合組織病態学 准教授  
研究協力者 杉浦一充 名古屋大学大学院医学系研究科 皮膚病態学 准教授  
研究協力者 秋山真志 名古屋大学大学院医学系研究科 皮膚病態学 教授

**研究要旨**

皮膚筋炎（DM）における疾患マーカー自己抗体のうち、抗 TIF1 $\alpha$  抗体は抗 TIF1 $\gamma$  抗体と併存して、抗 155/140 抗体を形成し、悪性腫瘍合併 DM のマーカー抗体として知られている。今回の研究で、合併症を伴わず予後の良い DM 病型のマーカー抗体として以前より知られている抗 Mi-2 抗体にも抗 TIF1 $\alpha$  抗体が併存することが判明した。生命予後の大きく異なる二つの DM 病型関連抗体（独立して存在する抗 TIF1 $\gamma$  抗体と抗 Mi-2 抗体）と抗 TIF1 $\alpha$  抗体が併存するという結果は、DM における疾患マーカー抗体が相互に排他的であると考えられる定説を覆すものである。

**A. 研究目的**

皮膚筋炎（dermatomyositis;DM）における疾患マーカー自己抗体が近年、次々と同定され、それらと DM の患者病型が非常によく相関することから、その臨床的意義が重要視されている。そして、それらは強皮症におけるマーカー自己抗体の場合と同様に、大部分の症例において相互に排他的である、つまり同一患者に複数のマーカー抗体が併存しないことから、診断や合併症の検索方針を考える際に重要なバイオマーカーとなっている。今回の研究では、悪性腫瘍合併 DM のマーカー抗体として発表された抗 155/140 抗体の抗 140 抗体に相当する抗 TIF1- $\alpha$  抗体の臨床的意義をさらに検討することを目的とした。

**B. 研究方法**

名古屋大学附属病院皮膚科を受診した 108 人の DM 患者を対象とした。そのうち、13 人は小児 DM、15 人は悪性腫瘍を伴った DM で、また 38 人は clinically amyopathic DM (CADM) と診断された。他の膠原病として、多発性筋炎が 9 人、全身性エリテマトーデスが 24 人、強皮症が 20 人、シェーグレン症候群が 26 人、筋炎を合併したオーバーラップ症候群が 15 人の合計 94 人を対照群とした。また、DM を伴わない 21 人の内臓悪性腫瘍患者と 20 人の健常人血清も使用した。

各種自己抗体の検索は、in vitro 転写翻訳系を

用いたりコンビナントタンパクを用いた ELISA および免疫沈降法（Immunoprecipitation: IP）によって、および K562 細胞タンパク抽出液を用いた IP-Western blotting (IP-WB) によって同定した。検体使用に関しては、名古屋大学医学部の倫理委員会の承認を得て遂行されている。

**C. 研究結果**

抗 TIF1- $\alpha$  抗体 ELISA において健常者血清 20 例を用いて定めたカットオフ値（平均+5S. D.）以上の値を示した血清は DM の 12 例に対して、他の膠原病では全く認められなかった（12/108 vs. 0/94、P=0.0012）。この結果はカットオフ値を平均+3S. D. に下げても変わらなかった。これら 12 例の抗 TIF1- $\alpha$  抗体は IP によっても確認されたのに対し、カットオフ値以下でも比較的 ELISA 値の高かった DM12 人、健常人 20 人、さらには癌患者 21 人の血清では TIF1- $\alpha$  は免疫沈降されなかった。

抗 TIF1- $\alpha$  抗体陽性 12 例の DM 患者のうち、7 例については従来の報告通り、抗 155 抗体に相当する抗 TIF1- $\gamma$  抗体の併存が IP で確認されたが、他の 5 例については抗 TIF1- $\gamma$  抗体は陰性であった。この 5 例は全例が悪性腫瘍合併のない、いわゆる古典的 DM であったことから、抗 Mi-2 抗体の有無について、Mi-2 $\beta$  遺伝子を用いて作成したりコンビナントタンパクの IP、モノクローナル Mi-2 $\alpha$  抗体を用いた IP-WB により調べたところ、驚く



べきことに5例とも抗Mi-2抗体が併存することが判明した。

抗TIF1- $\alpha$ 抗体陽性12例のDM患者の臨床型を二つの併存抗体別に検討すると、抗TIF1- $\gamma$ 抗体併存の7例は、成人DMが4例（そのうち2例がCADM、悪性腫瘍合併DMが2例）、小児DMが3例（全例がCADM）であった。それに対して、抗Mi-2抗体の併存例は5例全例が成人の（悪性腫瘍や間質性肺炎を伴わない）いわゆる古典的DMであった。

抗TIF1- $\gamma$ 抗体陽性例からみた場合、Fujimotoら（Arthritis Rheum 2012）の報告では抗TIF1- $\alpha$ 抗体併存例（n=49）が非併存例（n=24）に比べ多く、悪性腫瘍合併患者の割合も各73%、50%と抗TIF1- $\alpha$ 抗体併存例の方に多かったが、我々の検討では抗TIF1- $\alpha$ 抗体併存例（n=7）が非併存例（n=11）に比べ多く、悪性腫瘍合併患者の割合も各29%、64%と抗TIF1- $\alpha$ 抗体非併存例の方に多かった。

#### D. 考察

今回の研究の意義としては、まず抗TIF1- $\alpha$ 抗体のDMに対する疾患特異性が確認されたことである。対照の膠原病94人、DMと関係のない癌患者21人と少ない患者数の検討ではあるものの、抗体陽性例はDMに限られた。そして、この結果以上に抗TIF1- $\alpha$ 抗体は抗TIF1- $\gamma$ 抗体に併存するばかりではなく、抗Mi-2抗体にも併存することが判明したことを強調したい。抗TIF1- $\gamma$ 抗体に関しては成人DMの悪性腫瘍合併タイプもしくは小児DMのマーカーとして、一方、抗Mi-2抗体は間質性肺炎や悪性腫瘍の合併がなく生命予後の良いいわゆる古典的DMのマーカーとして知られている。今回の研究では抗TIF1- $\alpha$ 抗体が単独に陽性となる例は見いだせなかったことより、抗TIF1- $\alpha$ 抗体陽性症例の臨床像は併存する抗TIF1- $\gamma$ 抗体（悪性腫瘍合併DM、小児DM、一部のCADM）や抗Mi-2抗体（古典的DM）が関連する臨床病型と関連していたと言える。

抗TIF1- $\gamma$ 抗体陽性例からみた場合、Fujimotoらの結果に比べて抗TIF1- $\alpha$ 抗体の陽性率が低いことについては我々のELISAの偽陰性の可能性を検討しなくてはならないが、陰性検体は上述のようにカットオフ値を下げてでも陰性のままであり、さらには一部ではあるがELISA値の比較的高いものはIPによって陰性が確認されている。従来から行われている細胞標識タンパクを使用したIPでは、抗TIF1- $\alpha/\gamma$ 抗体における交差性抗体を拾い

上げている可能性や2種のタンパクの相互作用によって沈降される可能性などは証明されていないものの、それらの可能性は残されている。また、われわれのリコンビナント蛋白に構造上の反応限界があるのかもしれない。

#### E. 結論

DM患者における疾患マーカー抗体は必ずしも相互に排他的ではない。抗TIF1- $\alpha$ 抗体が生命予後の全く異なる2つの病型に対応する抗TIF1- $\gamma$ 抗体と抗Mi-2抗体と、それぞれ独立して併存することより、抗TIF1- $\alpha$ 抗体を単独に同定することは臨床的にDMの病型を分類する目的としては、あまり有効でない可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Muro Y, Ishikawa A, Sugiura K, Akiyama M. Clinical features of anti-TIF1- $\alpha$  antibody-positive dermatomyositis patients are closely associated with coexistent dermatomyositis-specific autoantibodies and anti-TIF1- $\gamma$  or anti-Mi-2 autoantibodies. Rheumatology (Oxford) 2012; 51: 1508-13.

##### 2. 学会発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし。

##### 2. 実用新案登録

なし。

##### 3. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

抗 SRP 抗体陽性ミオパチー患者由来 IgG は筋内小血管ペリサイトの細胞死を誘導する

分担研究者 神田 隆<sup>1)</sup>

共同研究者 清水文崇<sup>1)</sup>, 斎藤和幸<sup>2)</sup>, 佐野泰照<sup>1)</sup>, 本田真也<sup>1)</sup>, 尾本雅俊<sup>1)</sup>, 田崎彩子<sup>1)</sup>

所属:1) 山口大学大学院医学系研究科 神経内科学

2) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 脳神経病態学

研究要旨

抗 SRP 抗体陽性ミオパチーは、血清中に筋炎自己抗体の一つである抗 SRP 抗体の出現を認める筋炎のサブグループである。抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの臨床像、筋病理像は、多発筋炎(PM)/皮膚筋炎(DM)の症例と大きく異なる。筋病理では炎症細胞浸潤が乏しい筋線維の著明な壊死・再生像を呈するが、自験 2 例を含めて筋内小血管に C5b-9 の沈着を認めることがあり、本症の病態機序として自己抗体介在性の筋内小血管障害の関与が推測される。我々が樹立した筋小血管由来のペリサイト不死化細胞株を用いて、抗 SRP 抗体陽性ミオパチーでの抗 SRP 抗体の病態機序への関与を筋微小血管障害に焦点をあてて解明することを試みた。抗 SRP 抗体陽性ミオパチー患者 2 例の血清から抽出した IgG をペリサイトに作用させるとペリサイトの突起が縮小し、死滅細胞が増加した。補体を添加させてもペリサイトの形態に変化はみられず、死滅細胞も増加しなかった。抗 SRP 抗体陽性ミオパチー患者由来 IgG が筋内小血管ペリサイトの細胞死を誘導したことから、抗 SRP 抗体が抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの病態機序に密接に関与する可能性が考えられた。

A. 研究目的

抗 SRP(signal recognition particle antibodies)抗体陽性ミオパチーは、血清中に筋炎自己抗体の一種である抗 SRP 抗体の出現を認める筋炎のサブグループである。抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの報告は、多発筋炎(PM)/皮膚筋炎(DM)症例とは臨床像、筋病理像が大きく異なっており、多くの症例が皮疹を有さず、亜急性経過で重篤な四肢/体幹筋の筋力低下と筋萎縮を生じ、副腎皮質ステロイド治療に抵抗性であるなどの特徴を示す。筋病理では炎症細胞浸潤が乏しい筋線維の著明な壊死・再生像を呈し、HLA class I 抗原の発現亢進を認めないが、自験 2 例を含めて筋内小血管に C5b-9 の沈着を認めることがあり、本

症の病態機序として自己抗体介在性の筋内小血管障害の関与が推測される。本研究の目的は、我々が樹立した筋小血管由来のペリサイト不死化細胞株を用いて、抗 SRP 抗体陽性ミオパチーでの抗 SRP 抗体の病態機序への関与を筋微小血管障害に焦点をあてて解明することである。

B. 研究方法

我々が樹立したヒト血液神経関門由来血管内皮細胞株(FH-BNB)とヒト筋内小血管由来ペリサイト不死化細胞株を用いた。これらの細胞に抗 SRP 抗体陽性ミオパチー患者 2 例(51 歳男性, 41 歳女性)の血清から抽出した IgG (SRP-IgG)および補体を作用させ、細胞の形態学的変化と細胞障害の定量的解析を免疫組織学的手法で検

討した. FH-BNB の tight junction 関連蛋白の発現量の変化を western blot 法で検討した.

(倫理面への配慮)

血清の採取に当たり, 山口大学医学部倫理委員会による承認を得た後研究への協力を文書で説明し同意を得た. 個人が特定できないようにサンプルの匿名化に配慮し, プライバシーの保護に万全を尽くした.

### C. 研究結果

SRP-IgG をペリサイトに作用させるとペリサイトの突起が縮小し, 死滅細胞が増加した. 補体を添加させてもペリサイトの形態に変化はみられず, 死滅細胞も増加しなかった. SRP-IgG を FH-BNB に作用させたが, FH-BNB の細胞死は誘導されず, occludin, claudin-5 の発現量に変化は無かった.

### D. 考察

抗 SRP 抗体陽性ミオパチー患者血清中に含まれる IgG がペリサイトの細胞死を惹起することが明らかとなった. 近年, 筋内小血管のペリサイトが血管壁から筋細胞障害が生じた部位まで遊走し栄養因子を放出することで筋細胞を修復する報告がなされており, ペリサイトが筋内部環境を維持する役割を担うことが注目されている. 抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの病態機序の一因として, 血中に含まれる自己抗体がペリサイトの細胞障害をきたし, 筋内部環境が破綻することで筋細胞死を惹起する可能性が推測された. 一方, 抗 SRP 抗体陽性ミオパチー由来 IgG は, FH-BNB には影響を与えなかった. 筋内小血管由来内皮細胞にどのような影響を与えるかについて今後検討する予定である.

### E. 結論

抗 SRP 抗体陽性ミオパチー患者由来 IgG が筋

内小血管ペリサイトの細胞死を誘導することが明らかとなった. この結果は抗 SRP 抗体が抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの病態機序に密接に関与する可能性を示すものである.

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Fumitaka Shimizu, Yasuteru Sano, Toshiyuki Takahashi, Hiroyo Haruki, Kazuyuki Saito, Michiaki Koga, Takashi Kanda: Sera from neuromyelitis optica patients disrupt blood-brain barrier. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 83: 288-297, 2012.
2. Fumitaka Shimizu, Yasuteru Sano, Hiroyo Haruki, Takashi Kanda: Pericyte-derived glial cell line-derived neurotrophic factor increase in the expression of claudin-5 in the blood-brain barrier and the blood-nerve barrier. *Neurochem Res* 37: 401-409, 2012.
3. Hiroyo Haruki, Michiaki Koga, Jun-ichi Ogasawara, Masatoshi Omoto, Motoharu Kawai, Takashi Kanda. Neuropathy in chronic graft-versus-host disease caused by Donor T cells. *Muscle Nerve* 46: 610-611, 2012.
4. Masatoshi Omoto, Satoshi O Suzuki, Takeshi Ikeuchi, Tomohiko Ishihara, Tomonori Kobayashi, Yoshio Tsuboi, Jun-ichi Ogasawara, Michiaki Koga, Motoharu Kawai, Toru Iwaki, and Takashi Kanda: Autosomal dominant tauopathy with parkinsonism and central hypoventilation. *Neurology* 78: 762-764, 2012.
5. Yuki Ichimura, Takashi Matsushita, Yasuhito Hamaguchi, Kenzo Kaji, Minoru Hasegawa,

- Yoshinori Tanino, Yayoi Inokoshi, Kazuhiro Kawai, Takuro Kanekura, Maria Habuchi, Atsuyuki Igarashi, Ryosuke Sogame, Takashi Hashimoto, Tomohiro Koga, Ayako Nishino, Naoko Ishiguro, Naoki Sugimoto, Rui Aoki, Noriko Ando, Testsuya Abe, Takashi Kanda, Masataka Kuwana, Kazuhiko Takehara, Manabu Fujimoto: Anti-NXP2 autoantibodies in adult patients with idiopathic inflammatory myopathies: possible association with malignancy. *Ann Rheum Dis* 71: 710-713, 2012.
6. Michiaki Koga, Gilbert M, Takahashi M, Li J, Koichi Hirata, Takashi Kanda, Nobuhiro Yuki. GQ1b-seronegative Fisher syndrome: Clinical features and new serological markers. *J Neurol* 2012; 252: 1366-1374
7. Michiaki Koga, Susumu Kusunoki, Ken-ichi Kaida, Ritei Uehara, Yoshikazu Nakamura, Tatsuo Kohriyama, Takashi Kanda. Nationwide survey of patients in Japan with Bickerstaff brainstem encephalitis: epidemiological and clinical characteristics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 83: 1210-1215, 2012.
8. Masaaki Abe, Yasuteru Sano, Toshihiko Maeda, Fumitaka Shimizu, Yoko Kashiwamura, Hiroyo Haruki, Kazuyuki Saito, Ayako Tasaki, Motoharu Kawai, Tetsuya Terasaki, Takashi Kanda. Establishment and Characterization of Human Peripheral Nerve Microvascular Endothelial Cell Lines: A New in vitro Blood-Nerve Barrier (BNB) Model. *Cell Struct Funct* 37: 89-100, 2012.
9. Nakamichi K, Kishida S, Tanaka K, Suganuma A, Sano Y, Sano H, Kanda T, Maeda N, Kira JI, Itoh A, Kato N, Tomimoto H, Kurane I, Lim CK, Mizasawa H, Saijo M. Sequential changes in the non-coding control region sequences of JC polyomaviruses from the cerebrospinal fluid of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch Virol* 2012 Nov 9
10. Takashi Kanda: Biology of the blood-nerve barrier and its alteration in immune-mediated neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84: 208-212, 2013.
11. 大石真莉子、川井元晴、小笠原淳一、古賀道明、神田 隆. 二相性の運動麻痺をきたしたワクチン関連性ポリオ (Vaccine-associated paralytic poliomyelitis, VAPP)の38歳女性例. *臨床神経学* 52: 744-749, 2012.
12. 清水文崇、神田 隆: 内分泌、代謝疾患と脳神経疾患. *日本内科学会雑誌* 101: 2226-2231, 2012.
13. 神田 隆: 第109回日本内科学会講演会教育講演 3. 糖尿病性末梢神経障害の病態と治療. *日本内科学会雑誌* 101: 2653-2659, 2012.

## 2. 学会発表

1. 神田 隆 糖尿病性末梢神経障害の病態と治療. 第109回日本内科学会総会・講演会教育講演 3、京都 2012.4.13.
2. 神田 隆 末梢神経生検の実際. NMC・日本神経学会共催ハンズオンセミナー、東京 2012.8.5.
3. 神田 隆 神経系のバリアーと神経免疫疾患. 第40回日本臨床免疫学会6学会合同シンポジウム、東京 2012.9.28.
4. 神田 隆 病態と病理. 第65回日本自律神経学会総会教育セミナー2「自己免疫性ニ