

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

全身性エリテマトーデス難治性病態の  
治療標的分子探索に関する研究に関する研究

研究分担者 竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 教授  
研究協力者 鈴木 勝也 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 助教

### 研究要旨

初年度は、未治療活動性 SLE の末梢血の亜分画における遺伝子発現を DNA マイクロアレイで網羅的に定量、統合解析で新たな治療標的の探索を試みたところ、末梢血全体での一般的な解析では埋もれてしまっていた本疾患の特徴の一端を明らかにできた。昨年度よりハイスループットシーケンサーを用いて、SLE 末梢血のトランスクリプトームワイド解析 (RNAseq) を行った。サンプル数は少数であるが、マッピング・モデリングにより、SLE、RA、HC 群ごとの既知遺伝子、新規遺伝子、新規 isoform 発現などをプロファイリングすることができた。新規解析法開発、偽陽性等の判別、再現性評価など今後の検討課題も明らかとなった。

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス (SLE) は、診断および治療の進歩により短期的予後は改善されたとの報告もあるが、1) 難治性病態の存在 2) 長期予後が不十分 3) 妊娠可能な若年女性に多い 4) 治療による副作用も少なくないことなど、依然として克服すべき課題は多い。これまでに治療標的分子探索を目的とした SLE 活動期末梢血における遺伝子発現プロファイルに関する研究が行われた結果、IFN signature に代表される変化が明らかとなったが、SLE の複雑な病態をひも解くにはさらなる詳細な検討が必要と考えた。本研究課題では、新規手法を用いた患者末梢血試料の詳細な解析により治療標的分子の探索を試みる。

初年度は、未治療活動性 SLE の末梢血を亜分画に分け、DNA マイクロアレイを用いて各分画の遺伝子発現を網羅的に定量、統合解析を行い、免疫プロテアソーム等の新たな治療標的分子の候補を抽出した。昨年度からはハイスループットシーケンサーを用いることにより末梢血遺伝子発現についてトランスクリプトームワイド解析 (RNAseq) を進め、本年度はバイオインフォマティクス解析を行い、SLE の末梢血の遺伝子発現異常の特徴について

て明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

SLE3 例、関節リウマチ (RA)3 例、健常人 (HC)6 例の計 12 検体の末梢血より Total RNA を抽出。Total RNA から poly A 鎖 (+) RNA を精製および数百 bp 程度に断片化した後、ランダムヘキサマーを用いて 2 本鎖 cDNA を合成。両末端に解析用のアダプターを付加し、鋳型となる cDNA ライブラリーを作製。SLE、RA 各 3 例、HC6 例はサンプル混合とし、合計 7 検体を Genome Analyzer IIx (Illumina) を用いて、ペアエンドシーケンシングを行った。塩基配列データを取得し、ヒトゲノム配列をリファレンス配列としてマッピングした。データはゲノムブラウザにインポートし、周辺の既公開ゲノムアノテーションとともにマッピングし比較解析を行った。

(倫理面への配慮)

倫理委員会承認の同意書の取得が得られた検体を用い、連結可能匿名化状態で解析施行。検体提供者のプライバシーについて最大限配慮を行った。

### C. 研究結果

SLE3 例、RA3 例、HC の 7 レーンおよびコントロール ( $\phi$ X) のいずれも、総リードペア 5000-6000 万リードのデータが取得でき、平均 depth も 30 前後と十分なカバレッジを持つデータが得られた。各リ

ードよりアダプター配列をトリミングの後、TopHatによりヒトゲノム(UCSC hg19)にマッピング。エキソン情報は、UCSC RefGene (RefSeq 由来)を参照し、エキソンごとサンプルごとにリードカバレッジを算出したところ、SLE サンプルに特異的な遺伝子が抽出された。さらに SLE 特異的なアイソフォームを抽出された。

#### D. 考察

RNAseq 法は一塩基レベルで遺伝子解析できる強力な手法で、トランスクリプトームワイドに発現を調べられることが利点である。今回サンプル数は少数であるが、マッピング・モデリングにより、SLE、RA、HC 群ごとの既知遺伝子、新規遺伝子、新規 isoform 発現などをプロファイリングすることができた。新規解析法開発、偽陽性等の判別、再現性評価など今後の検討課題も明らかとなった。

#### E. 結論

細胞亜分化と高密度解析の2種類の網羅的遺伝子解析法により、これまで覆われていた SLE の遺伝子発現の特徴の一端を明らかにすることができた。これらの情報は本疾患の病態解明、治療法の確立に寄与するものと考えられた。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Takeuchi T and Suzuki K. *CD247* variants and single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus patients.

*Rheumatology (Oxford)* 52 (9) 1551-5, 2013

2) 倉沢隆彦、鈴木勝也、竹内勤: 特集 自己免疫疾患の最近の話題と展望 マイクロアレイを用いた自己免疫疾患の解析 *Pharma Medica* vol.31 No.1 メディカルレビュー 2013

##### 2. 学会発表

1) 鈴木勝也、竹内勤: トランスクリプトミクスのリウマチ性疾患への応用、第8回北海道ヤング

- アカデミー、2013年7月19日、北広島、講演
- 2) 鈴木勝也、吉本桂子、倉沢隆彦、竹下勝、竹内勤: SLE 末梢血におけるトランスクリプトームワイドの遺伝子発現解析、2013年12月4日、第36回日本分子生物学会年会、神戸、ポスター発表
- 3) Suzuki K, Yoshimoto K, Takeshita M, Takeuchi T: Identification of transcriptomewide gene expression signature on peripheral blood mononuclear cells from systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients by high-throughput DNA sequencer、第42回日本免疫学会学術集会、2013年12月11日、千葉、ワークショップ講演、ポスター発表

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

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

抗リン脂質抗体陽性全身性エリテマトーデスの血栓形成機序解析に関する研究

研究分担者 渥美 達也 北海道大学大学院医学研究科 内科学講座・第二内科 教授  
研究協力者 藤枝雄一郎 北海道大学大学院医学研究科 内科学講座・第二内科

研究要旨

【目的】全身性エリテマトーデスの代表的な合併症のひとつ、抗リン脂質抗体症候群（APS）は血栓性疾患である。我々はホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体（aPS/PT）が APS の病態に関わっている病原性自己抗体であることを示したが、aPS/PT が刺激を細胞内部に伝達する受容体については不明である。そこでプロテオミクス的手法を用いてプロトロンビンおよび aPS/PT の結合に関与する分子を同定することを目的とし、平成 24 年度に RibophorinII（RPN2）がプロトロンビンと結合する候補タンパクとして同定された。そこで細胞膜表面に存在する RPN2 とプロトロンビンの結合が抗リン脂質抗体による単球活性化に関与しているかについて検討した。【方法】RPN2 が細胞膜表面に存在することを Flowcytometry（FCM）、間接蛍光抗体法を用いて確認した。単球の活性化に候補タンパクが関与していることを検討するために、RNA 干渉（siRNA）を用いて、マウスモノクローナル aPS/PT（231D）で誘導される組織因子（TF）の発現をリアルタイム PCR によって確認した。【結果】RPN2 が PBMC および RAW264.7 の細胞表面に存在することを確認した。RPN2siRNA でノックダウンした RAW264 細胞を PT および 231D で刺激したところ、TFmRNA 発現が有意に低下した。【結論】プロテオミクス解析からプロトロンビン結合タンパクとして RPN2 が同定された。RPN2 は抗リン脂質抗体症候群における血栓形成病態に関与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデスの代表的な合併症のひとつ、抗リン脂質抗体症候群（APS）は、血中に抗リン脂質抗体（aPL）が証明され、血栓症や妊娠合併症をきたす自己免疫疾患である。aPL は向凝固細胞（血小板、血管内皮細胞、単球）を活性化する病原性自己抗体と考えられている。我々はホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体（aPS/PT）が APS の診断において有用であることを示し、aPS/PT のモノクローナル抗体である 231D によって向凝固細胞活性化が起こることを報告した。すなわち aPS/PT は APS の病態に関わっている病原性自己抗体であると考えられるが、aPS/PT が刺激を細胞内部に伝達する受容体については不明である。そこでプロテオミクス的手法を用いてプロトロンビンおよび aPS/PT の結合に関与する分子を同定することを目的とした。平成 24 年度に RibophorinII（RPN2）がプロトロンビンと結合する候補タンパクとして同定された。そこで細胞膜表面に存在する RPN2 とプロトロンビンの結合が抗リン脂質抗体による単球活性化に関与しているかについて検討した。

B. 研究方法

PBMC および RAW264.7 の細胞表面に RPN2 が存在していることを検討するために、Flowcytometry（FCM）および間接蛍光抗体法を用いて解析した。単球の活性化に RPN2 が関与していることを検討するために、RPN2 の siRNA を用いて、231D で誘導される TF の発現をリアルタイム PCR によって確認した。

（倫理面への配慮）

患者検体を使用した全ての実験はヘルシンキ宣言および「臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日改訂）」に従い、すべての対象者から書面にて事前にインフォームドコンセントを取得した。

C. 研究結果

FCM により、PBMC の単球細胞および RAW264.7 の細胞内および細胞表面に RPN2 が存在することを確認した（図 A）。間接蛍光抗体法により、RAW264.7、HEK の細胞表面に RPN2 が存在することを共焦点顕微鏡で確認した（図 B）。RPN2 の siRNA を用い、RAW264.7 の RPN2 をノックダウンした。発現低下は、real time PCR と FCM で確認した。（図 C）。RPN2siRNA でノックダウンした RAW264 細胞を PT および 231D で刺激し

たところ、TFmRNA 発現が有意に低下した (図 D)。

Lupus 22:761-71, 2013

#### D. 考察

RPN2 は粗面小胞体に局在する I 型膜タンパク質で、オリゴ糖転移酵素複合体を構成する成分の一つである。新生ポリペプチド鎖に N-結合型糖鎖を付加する機能を持ち、糖タンパク質の品質管理機構に関与している。今回の実験により、プロトロンビンは単球表面に表出した RPN2 に結合し、その結合は aPS/PT による単球細胞の活性化に関与していると推定される。つまり aPS/PT が認識するエピトープの表出に RPN2 との結合が関与している可能性がある。したがって、今後 PS 存在下、非存在下における RPN2 とプロトロンビンの結合を比較する必要がある。この検討により、プロトロンビンの構造変化が PS のみに依存するかが明らかとなる。また RPN2 が糖転移酵素であることから考察すると、RPN2 が細胞表面に表出することで、プロトロンビンの糖鎖修飾に影響を与え、プロトロンビンの機能異常や抗体との結合率に変化が生じている可能性も考えられる。

#### E. 結論

プロテオミクス解析から APS の主要な対応抗原であるプロトロンビン結合タンパクとして、糖転移酵素である RPN2 を同定した。今後 APS における RPN2 が関与する血栓形成の病態を検討する。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Amengual O, Atsumi T, Oku K, Suzuki E, Horita T, Yasuda S, Koike T. Phospholipid scramblase 1 expression is enhanced in patients with antiphospholipid syndrome. *Mod Rheumatol* 23:81-8, 2013.

2. Oku K, Amengual O, Zigon P, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Essential role of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in the tissue factor gene expression by the phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody. *Rheumatol* 52: 1775-84, 2013

3. Kato M, Atsumi T, Oku K, Amengual O, Nakagawa H, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Yasuda S, Koike T. The involvement of CD36 in the monocyte activation by antiphospholipid antibodies.

4. Jin H, Arase N, Hirayasu K, Kohyama M, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka K, Ebina K, Shid K, Toyama-Sorimachi N, Yasuda S, Horita T, Hiwa R, Takasugi K, Ohmura K, Yoshikawa H, Saito T, Atsumi T, Sasazuki T, Katayama I, Lanier LL, Arase H. Autoantibodies to IgG/HLA-DR complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci U S A* (in press)

5. Amengual O, Horita T, Binder W, Norman GL, Shums Z, Kato M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Yasuda S, Atsumi T. Comparative analysis of different enzyme immunoassays for assessment of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies. *Rheumatology International* (in press)

#### 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

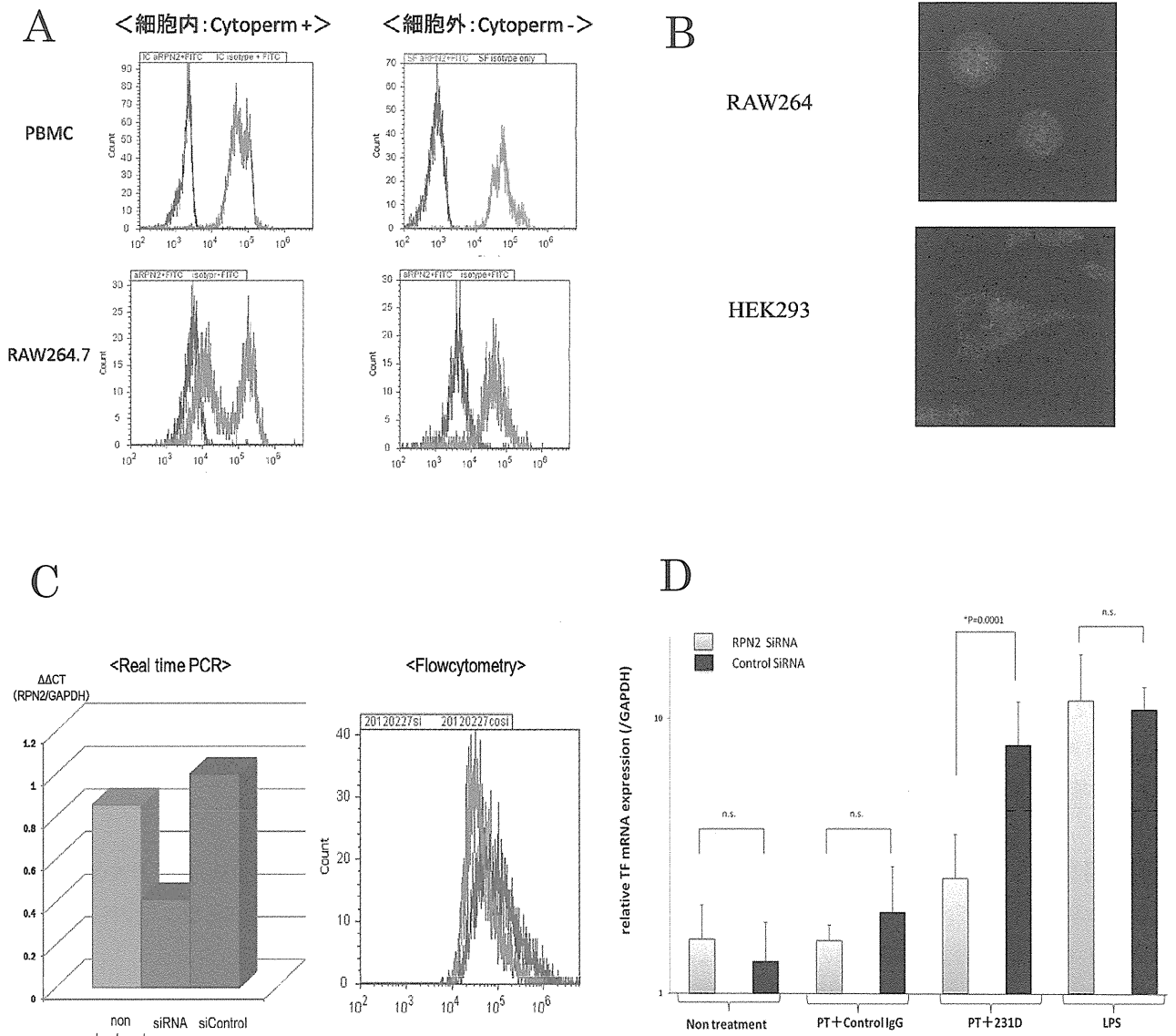


図 A: PBMC、RAW264.7 において、RPN2 が細胞内、細胞表面に存在することを確認した。

図 B: 共焦点顕微鏡を用い、間接蛍光抗体法で RPN2 が細胞表面に存在することを確認した。

図 C: RPN2 の siRNA を用い、RAW264.7 の RPN2 の発現が低下していることを real time PCR、FCM で確認した。

図 D: RPN2 の発現が低下した細胞は、発現低下がない細胞と比較して、有意に TFmRNA の発現低下がみられた。

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

B 細胞を標的とした全身性エリテマトーデスの治療の開発に関する研究

研究分担者	田中 良哉	産業医科大学医学部第一内科学講座	教授
研究協力者	中山田真吾	産業医科大学医学部第一内科学講座	講師
研究協力者	久保 智史	産業医科大学医学部第一内科学講座	助教

研究要旨

全身性エリテマトーデス(SLE)の発症過程では、濾胞性ヘルパーT (T<sub>h</sub>)細胞およびB細胞の活性化による過剰な自己抗体産生を介した多臓器障害が生ずる。しかし、病態を形成するB細胞の分化と機能の詳細は不明である。本年度は、SLEにおける活性化B細胞の質的異常を明らかにするため、ケモカイン受容体によるサブセット分類を試み、その誘導機構と病的意義を検討した。その結果、SLE患者B細胞では、memory B細胞の増加が特徴的であるが、その機能と分化の機序は不明であった。今回の検討により、①活動期のSLEではCXCR5陰性CXCR3陽性のeffector memory B細胞が疾患特異的に出現すること、このサブセットの割合がB細胞を刺激するT<sub>h</sub>細胞の活性化と相関すること、T<sub>h</sub>細胞が産生するIL-21とIFN- $\gamma$ の刺激がB細胞の分化誘導とエフェクター機能を強力に誘導することが明らかとなった。即ち、B細胞はT<sub>h</sub>細胞からの刺激を受容し、CXCR5の減弱とCXCR3の増強を介してリンパ組織から標的臓器へ遊出して、エフェクター機能を発揮することが示唆された。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス(SLE)の発症過程では、濾胞性ヘルパーT (T<sub>h</sub>)細胞およびB細胞の活性化による過剰な自己抗体産生を介した多臓器障害が生ずる。しかし、病態を形成するB細胞の分化と機能の詳細は不明である。平成24年度は、B細胞の活性化に重要な役割を担うBtk (Bruton's tyrosine kinase)に着目し、B細胞の分化誘導、抗体産生における役割を解明した。本年度は、SLEにおける活性化B細胞の質的異常を明らかにするため、ケモカイン受容体によるサブセット分類を試み、その誘導機構と病的意義を検討した。

B. 研究方法

健常人、RA患者、SLE患者より末梢血を採取し、8カラーフローサイトメトリー (FACSVerse)を用いて、T細胞、B細胞のケモカイン受容体による細分類を試み、各サブセット間および患者背景との相関を検討した。ヒト末梢血CD19陽性B細胞をBCR架橋、sCD40L、各種サイトカイン

(IL-6, IL-21, IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )で刺激し、ケモカイン受容体、転写因子Bcl-6、T-betなどの発現を検討した。

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、所属機関の倫理委員会、或は、IRBで承認を得た研究に限定し、患者からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報や所属機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にする。

C. 研究結果

①SLE患者末梢血では、IgM memory B細胞の割合が減少し、CD19<sup>+</sup>IgD<sup>-</sup>CD27<sup>+</sup> effector memory B細胞とCD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> plasmablastの割合が増加した。T細胞ではCD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>CCR7<sup>-</sup> effector T細胞と

CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>CXCR5<sup>+</sup> Tfh 細胞の割合が増加した。② SLE 患者 B 細胞では、健常人、RA 患者と比し、CXCR5 の発現が有意に減少した。さらに、SLE では、CXCR5 陰性 CXCR3 陽性の effector memory B 細胞が有意に増加し、疾患活動性と相関した。③この B 細胞サブセットの割合は、末梢血における活性化 Tfh 細胞の割合と正の相関を認めた。④ヒト末梢血 B 細胞の CXCR5 の発現は、BCR 架橋および sCD40L 刺激によって減弱した。⑤ヒト末梢血 B 細胞の Bcl-6 の発現は BCR/sCD40L/IL-21 の刺激で、T-bet の発現は BCR/sCD40L/IFN- $\gamma$  の 3 者の刺激の共存により、強力に誘導された。

## D. 考察

SLE 患者 B 細胞では、memory B 細胞の増加が特徴的であるが、その機能と分化の機序は不明であった。今回の検討により、①活動期の SLE では CXCR5 陰性 CXCR3 陽性の effector memory B 細胞が疾患特異的に出現すること、②このサブセットの割合が B 細胞を刺激する Tfh 細胞の活性化と相関すること、③Tfh 細胞が産生する IL-21 と IFN- $\gamma$  の刺激が B 細胞の分化誘導とエフェクター機能を強力に誘導することが明らかとなった。即ち、B 細胞は Tfh 細胞からの刺激を受容し、CXCR5 の減弱と CXCR3 の増強を介してリンパ組織から標的臓器へ遊出して、エフェクター機能を発揮することが示唆された。今後、この細胞集団と臨床病態、治療前後での変化との関連性を検討する必要がある。また、B 細胞/Tfh 細胞の機能異常を齎す細胞内外のシグナル伝達異常が特定されることで、そのシグナル制御による新規治療法の開発が期待される。

## E. 結論

SLE では、effector memory B 細胞が量的に増加するのみならず、Tfh 細胞からの刺激を受容することでケモカイン受容体 CXCR3 および転写因子 T-bet の発現誘導による質的な異常が齎され、病態形成へ寄与することが考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. [Tanaka Y](#), Hirata S. Is it possible to withdraw biologics from therapy in rheumatoid arthritis? *Clinical Therapeutics* (in press)
2. [Tanaka Y](#), Hirata S, Kubo S, Fukuyo S, Hanami K, Sawamukai N, Nakano K, Nakayamada S, Yamaoka K, Sawamura F, Saito K. Discontinuation of adalimumab after achieving remission in patients with established rheumatoid arthritis: 1-year outcome of the HONOR study. *Ann Rheum Dis* (in press)
3. Kubo S, Yamaoka K, Kondo M, Yamagata K, Zhao J, Iwata S, [Tanaka Y](#). The JAK inhibitor tofacitinib reduces the T cell stimulatory capacity of human monocyte-derived dendritic cells. *Ann Rheum Dis* (in press)
4. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Takei S, [Tanaka Y](#), Sano Y, Yaguramaki H, Yamanaka H. Characteristics related with good effectiveness and safety with tocilizumab: Postmarketing surveillance of 7901 rheumatoid arthritis patients in Japan. *J Rheumatol* (in press)
5. Hirata S, Saito K, Kubo S, Fukuyo S, Mizuno Y, Iwata S, Nawata M, Sawamukai N, Nakano K, Yamaoka K, [Tanaka Y](#). Discontinuation of adalimumab after attaining DAS28 (ESR) remission in patients with rheumatoid arthritis (HONOR study): and observational study. *Arthritis Res Ther* (in press)
6. Kondo M, Yamaoka K, Sonomoto K, Fukuyo S, Oshita K, Okada Y, [Tanaka Y](#). IL-17 inhibits chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Plos ONE* (in press)
7. Yamanaka H, Ishiguro N, Takeuchi T, Miyasaka N, Mukai M, Matsubara T, Uchida S, Akama H, Kupper H, Arora V, [Tanaka Y](#). Recovery of clinical but not radiographic autocomes by the delayed addition of adalimumab to methotrexate-treated Japanese patients with early rheumatoid arthritis: 52 week results of the HOPEFIL-1 trial. *Rheumatology* (in press)
8. Fukuyo S, Yamaoka K, Sonomoto K, Oshita K, Okada Y, Saito K, Yoshida Y, Kanazawa T, Minami Y, [Tanaka Y](#). IL-6-accelerated calcification by induction of ROR2 in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells is

- STAT3-dependent. *Rheumatology* (in press)
9. Yukawa S, Yamaoka K, Sawamukai N, Shimajiri S, Kubo S, Miyagawa I, Sonomoto K, Saito K, Tanaka Y. Dermal mast cell density in fingers reflects severity of skin sclerosis in systemic sclerosis. *Mod Rheumatol* (in press)
  10. Sonomoto K, Yamaoka K, Kubo S, Hirata S, Fukuyo S, Maeshima K, Suzuki K, Saito K, Tanaka Y. Effects of tofacitinib on lymphocytes in rheumatoid arthritis: Relation to efficacy and infectious adverse events. *Rheumatology* (in press)
  11. Tanaka Y. Next stage of RA treatment: TNF-inhibitor-free remission will be a possible treatment goal? *Ann Rheum Dis* (2013) 72, ii124-ii127
  12. Smolen JS, Schoels MM, Nishimoto N, Breedveld FC, Burmester G, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Gabay C, Gibofsky A, Gomez-Reino JJ, Jones G, Kvien TK, Murakami M, Betteridge N, Bingham III C, Bykerk V, Choy E, Combe B, Cutolo M, Graninger W, Lanan A, Martin-Mola E, Montecucco C, Ostergaard M, Pavelka K, Rubbert-Roth A, Sattar N, Scholte-Voshaar M, Tanaka Y, Trauner M, Valentini G, Winthrop K, de Wit M, van der Heijde D. Consensus statement on blocking the effects of interleukin-6 and in particular by interleukin-6 receptor inhibition in rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. *Ann Rheum Dis* (2013) 72, 482-492
  13. Tanaka Y, Yamaoka K. A Jak inhibitor tofacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis from basic to clinic. *Mod Rheumatol* (2013) 23, 415-424
  14. O'Shea JJ, Kontzias A, Yamaoka K, Tanaka Y, Laurence A. Janus kinase inhibitors in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* (2013) 72, ii111-
  15. Tanaka Y, Hirata S, Saleem B, Emery P. Discontinuation of biologics in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* (2013) 31 (Suppl. 78): S22-S27
  16. Kameda H, Kanbe K, Sato e, Ueki Y, Saito K, Nagaoka S, Hidaka T, Atsumi T, Tsukano M, Kasama T, Shiozawa S, Tanaka Y, Yamanaka H, Takeuchi T. A merged presentation of clinical and radiographic data using probability plots in a clinical trial, the JESMR study. *Ann Rheum Dis* (2013) 72, 310-312
  17. Aoki T, Yamashita Y, Saito K, Tanaka Y, Korogi Y. Diagnosis of early-stage rheumatoid arthritis: usefulness of unenhanced and gadolinium-enhanced MR images at 3T. *Clin Imaging* (2013) 37, 348-353
  18. van der Heijde D, Tanaka Y, Fleischmann R, Keystone E, Kremer J, Zerbini C, Cardiel MH, Cohen S, Nash P, Song YW, Tegzová D, Wyman BT, Gruben D, Benda B, Wallenstein G, Krishnaswami S, Zwillich SH, Bradley JD, Connell CA and the ORAL Scan investigators. Tofacitinib (CP-690,550) in patients with rheumatoid arthritis on methotrexate: 12 month data from a 24 month Phase 3 randomized radiographic study. *Arthritis Rheum* (2013) 65: 559-570
  19. Toyota T, Akamatsu N, Tanaka A, Shouzaki T, Tsuji S, Saito K, Tanaka Y. Mesial temporal lobe epilepsy as a neuropsychiatric syndrome of systemic lupus erythematosus. *Epilepsia* (2013) 54, e33-e36
  20. Iwata S, Saito K, Tokunaga M, Tanaka Y. Persistent memory B cell down-regulation after 6-year remission induced by rituximab therapy in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* (2013) 22, 538-540
  21. Aoki T, Yamashita Y, Oki H, Takahashi H, Hayashida Y, Saito K, Tanaka Y, Korogi Y. Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL) of the wrist and finger at 3T: Comparison with chemical shift selective fat suppression images. *J Magn Reson Imaging* (2013) 37, 733-738
  22. Li X, Yamagata K, Nishita M, Endo M, Arfian N, Rikitake Y, Emoto N, Hirata K, Tanaka Y, Minami Y. Activation of Wnt5a-Ror2 signaling associated with epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of tubular epithelial cells during renal fibrosis. *Genes Cells* (2013) 18, 608-619
  23. Takeuchi T, Harigai M, Tanaka Y, Yamanaka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Oba T, Yoshinari T, Baker D, and the GO-MONO study group. Golimumab monotherapy in Japanese patients with active rheumatoid arthritis despite prior treatment with disease-modifying anti-rheumatic drugs: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-MONO



- study through 24 weeks. *Ann Rheum Dis* (2013) 72, 1488-1495
24. Mori T, Kabashima K, Fukamachi S, Kuroda E, Sakabe JI, Kobayashi M, Nakajima S, Nakano K, Tanaka Y, Matsushita S, Nakamura M, Tokura Y. D1-like dopamine receptors antagonist inhibits cutaneous immune reactions mediated by Th2 and mast cells. *J Dermatol Sci* (2013) 18, 608-619
  25. Hanami K, Nakano K, Saito K, Okada Y, Yamaoka K, Kubo S, Kondo M, Tanaka Y. Dopamine D2-like receptor signaling suppresses human osteoclastogenesis. *Bone* (2013) 56, 1-8
  26. Ikenouchi-Sugita A, Yoshimura R, Hori H, Umene-Nakano W, Katsuki A, Saito K, Tanaka Y, Nakamura J. Plasma catecholamine metabolite levels and the activities of psychiatric symptoms in systemic lupus erythematosus. *Hum Psychopharm Clin* (2013) 28, 198-202
  27. Hirata S, Driven L, Shen Y, Centola M, Cavet G, Lems WF, Tanaka Y, Huizinga TWJ, Allaart CF. A multi-biomarker score measures rheumatoid arthritis disease activity in the BeSt study. *Rheumatology* (2013) 52, 1202-1207
  28. Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Miyasaka N, Mukai M, Matsubara T, Uchida s, Akama H, Kupper H, Aprora V, Tanaka Y. Adalimumab a human anti-TNF monoclonal antibody, outcome study for the prevention of joint damage in Japanese patients with early rheumatoid arthritis: the HOPEFUL 1 study. *Ann Rheum Dis* (2013) 72, 1488-1495
  29. Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Tanaka Y, Yamanaka H, Hirose T, Yoshinaga T, Suzukawa M. Safety and effectiveness of 6 months etanercept monotherapy and combination therapy in Japanese patients with rheumatoid arthritis: effect of concomitant disease-modifying antirheumatic drugs *J Rheumatol* (2013) 40, 1658-1668
  30. Choo Q-Y, Ho P, Tanaka Y, Lin H-S. Histone Deacetylase Inhibitors MS-275 and SAHA Suppressed p38 Mitogen Activated Protein Kinase Signaling Pathway and Chemotaxis in Rheumatoid Arthritic Synovial Fibroblastic E11 cells. *Molecules* (2013) 18, 14085-14095

## 2. 学会発表

1. Y. Tanaka. Treatment of SLE with biologics. The 15th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology, APLAR 2012, Dead Sea, Jordan. 平成 24 年 9 月 10 日 - 14 日
2. Y Tanaka, S Hirata, S Fukuyo, M Nawata, S Kubo, K Yamaoka and K Saito. Discontinuation of Adalimumab without Functional and Radiographic Damage Progression After Achieving Sustained Remission in Patients with Rheumatoid Arthritis (the HONOR study): 1-Year Results. 第 78 回米国リウマチ学会 ACR 2012 (concurrent Workshop), Washington DC, USA, 平成 24 年 11 月 9 日から 11 月 14 日
3. Y. Tanaka. Next stage of RA treatment: Biologics-free remission will be a possible treatment goal?. *Advances in Targeted Therapies* 2012, Baveno, Italy. 平成 24 年 3 月 28 日 - 4 月 1 日
4. Y. Tanaka. Next stage of RA treatment: Biologics-free remission will be a possible treatment goal? T3 Medical Symposium, Seoul, "Achievement of ultimate treatment goal in RA". Seoul. 平成 24 年 5 月 3 日 - 4 日
5. Y. Tanaka. The Maximization of Efficacy of Tocilizumab for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. The 8th International Congress on Autoimmunity. Granada, Spain. 平成 24 年 5 月 9 日 - 12 日

## 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

多発性筋炎/皮膚筋炎患者の有所見割合—臨床調査個人票の解析—

研究分担者 太田 晶子 埼玉医科大学大学医学部公衆衛生学 講師  
研究協力者 石原 正一郎 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学分野 助教  
神人 正寿 熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学分野 講師  
上阪 等 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科膠原病・リウマチ内科学 教授

### 研究要旨

臨床調査個人票（個人票）を利用し、昨年度までに多発性筋炎/皮膚筋炎（PM/DM）の患者数（有病率）、罹患率の推計、性・年齢分布、発病年齢分布、性・年齢・発病後期間別有所見割合、治療状況を示してきた。本年度は、現在 PM と DM それぞれがどのような所見をもって診断されているのかを確認することを目的として、PM と DM それぞれ、発病後初期において、どのような症状・所見があるのかを明らかにした。2003～2012 年度の個人票の入力率を確認し、入力率の高い 2011 年度の新規受給者で発病後 1 年未満の者について、1992 年厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班作成の診断基準に基づいて、PM の診断基準、DM の診断基準それぞれを満たす者に分けて、臨床症状の有所見割合を求めた。

2011 年度新規受給、発病後 1 年未満の者は 1,001 人、うち PM の診断基準を満たす者（PM）は 352 人で、DM の診断基準を満たす者（DM）は 557 人あった。有所見割合は、筋力低下や筋原性酵素上昇所見などでは、PM の診断基準を満たす者、DM の診断基準を満たす者の間で大きな差はなかったが、その他の所見の有所見割合では違いが認められた。本研究結果は、現在進められている PM/DM の国際診断基準の妥当性の調査の参考資料に資すると考える。

### A. 研究目的

多発性筋炎・皮膚筋炎（Polymyositis/Dermatomyositis：PM/DM）は、厚生労働省により特定疾患治療研究事業として医療受給対象疾患に指定されている。特定疾患治療研究事業は、患者の医療費の自己負担分を公費で補助し、受療を促進することで多くの患者情報を得て病因解明や治療法開発などの調査研究を推進しようとするものである。

特定疾患治療研究事業において、臨床調査個人票（以下、個人票）が全ての医療受給申請で提出され、これにより患者（医療受給者）の基本的臨床情報を得ることができる。厚生労働省の難病患者認定適正化事業において、個人票の内容は、都道府県（あるいは保健所）によって、WISH（厚生労働省行政情報総合システム）に導入されている特定疾患調査解析システムに電子入力され、オンラインで厚生労働省へデータが届く仕組みになっている。2003 年度以来、本格的に電子入力されるようになり、その利用が可能となっている。

PM/DM の診断基準には、Bohan and Peter の診断基準や、1992 年に厚生省自己免疫疾患調査研究班が発表した診断基準などがあるが、いずれも 20 年以上前に作成されたものであり、診断・検査法の進歩に十分対応していないと考えられるようになってきている。そこで、2005 年から IMCCP（International Myositis Classification Criteria Project）により診断基準作成プロジェクトが開始され、2012 年に国際診断基準案（IMCCP 案）が

公表された。現在我が国でこの基準案の妥当性調査が進められている。

臨床調査個人票（個人票）を利用し、昨年度までに PM/DM の患者数（有病率）、罹患率の推計、性・年齢分布、発病年齢分布、性・年齢・発病後期間別有所見割合、治療状況を示してきた。本年度は、現在 PM と DM それぞれがどのような所見をもって診断されているのかを確認することによって、新しい基準を考えるための参考とするため、PM と DM それぞれ、発病後初期において、どのような症状・所見があるのかを明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

資料として、2013 年 7 月現在電子入力済みの、2003 年度から 2012 年度までの「皮膚筋炎及び多発性筋炎」と「強皮症」の個人票を利用した。個人票は厚生労働省に文書で利用申請し、使用許可を得た。

同じ年度に新規、更新両方が入力されていた例については、新規のみ採用した。その他、同一個人が重複して入力されていた場合は 1 件のみを採用して解析した。

個人票は必ずしもすべてが電子入力されているのではなく、その割合、入力率を確認することが必要である。そのための分母、受給者の全数を厚生統計である衛生行政報告例<sup>1,2)</sup> から得た。入力率は、電子入力された個人票数／公表された受給者数として求めた。た

だし、ここで得られる受給者数全数（入力率の分母）は、多発性筋炎・皮膚筋炎だけのものではなく、多発性筋炎・皮膚筋炎と強皮症の2疾患を合せた、「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の数となっている。多発性筋炎・皮膚筋炎単独での受給者数は残念ながらわからない。行政統計上2疾患合計の受給者数として公表されているためである。そのため入力率は、「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の2疾患合せた形で算出した。2003～2012年度の個人票の入力率を確認した。

2011年度の新規受給者で発病後1年未満の者について、個人票の記載内容から、1992年厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班作成の診断基準（参考表）を適用し、PMの診断基準、DMの診断基準それぞれを満たす者に分けて、臨床症状の有所見割合を求めた。なお、新規の個人票に記載する臨床症状は、診断時又は最重症時のものとされている。

（倫理面への配慮）

本研究は、特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票の研究目的利用に関する要綱に基づき実施した。利用したデータには、個人名、住所など個人を同定できるものは含まれていない。

## C. 研究結果

### 1) 個人票入力率（2013年7月現在）

「皮膚筋炎及び多発性筋炎」と「強皮症」の2疾患合せた個人票入力件数、入力率を表1に示した。2003年度から2012年度の各年の「強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎」の全受給者数は約32,000～46,000であり、2003年度から2012年度の個人票電子入力件数（2013年7月現在）は、約19,000～35,000となっている。2003年度から2012年度の各年入力率は50.5%～81.5%であり、解析対象の2011年度は75.7%であった。

2) PMの基準、DMの基準を満たす者における臨床症状の有所見割合

入力率が75.7%と良好でかつ最新年度の2011年度の個人票データを使用した。

2011年度PM/DM個人票の入力件数は13,614件であった。このうち新規受給者は1,668件（男576、女1,092、性比（女/男）1.90）であった。2011年度新規受給、発病後1年未満の者は1,001人、うちPMの診断基準を満たす者（PM）は352人で、DMの診断基準を満たす者（DM）は557人であった（表2）。

PMの診断基準を満たす者（PM）、DMの診断基準を満たす者（DM）の性・年齢分布を表3に示した。PMは男124人、女228人、DMは男209人、女348人であり、性比（女/男）はそれぞれ1.84、1.67と大きな違いはなかった。年齢分布は、PMは60歳以上が多く、DMは40～60歳の成人の年齢層、それ以下の若年層が多かった。

皮膚所見の有所見割合を表4に示した（なお、PM基準を満たす者には、皮膚所見ありはない）。DMの診断基準を満たす者では、ヘリオトローブ疹の有所見割合は

56%、ゴットロン徴候、四肢伸側の紅斑は約80%であった。

皮膚以外の臨床所見有所見割合を表5に示した。筋力低下はPM、DMともに約95%、筋原性酵素の上昇はPM 97.2%、DM 92.6%であった。筋電図施行されている者の中での有所見（筋原性変化あり）割合は、PM 88.9%、DM 82.1%であった。（ただし筋電図所見不明者はPM 27.8%、DM 44.7%である。）関節炎・関節痛所見はPM 38.9%、DM 49.9%、CRP上昇はPM 66.5%、DM 69.8%であった。抗Jo-1抗体陽性は、PM 20.2%、DM 12.0%、間質性肺炎ありはPM 51.4%、DM 55.5%であった。筋生検施行している者の中での筋炎病理所見ありは、PM 86.6%、DM 72.9%であった。（ただし筋生検所見不明者はPM 39.2%、DM 59.8%である。）

## D. 考察

有所見割合は、筋力低下や筋原性酵素上昇所見などでは、PMの診断基準を満たす者、DMの診断基準を満たす者の間で大きな差はなかったが、その他の所見の有所見割合では違いが認められた。

本解析において、PMの診断基準を満たす者、DMの診断基準を満たす者、それぞれの区分は、個人票の記載内容から診断基準を適用して判定したものである点に留意が必要である。新規の個人票に記載する臨床症状は、診断時又は最重症時のものとされているが、1992年厚生省診断基準では経過中に（一時的にでも）症状があれば診断されるものであろう。従って厳密には、医師がPM/DMと診断していたとしても、個人票の記載上はPM/DMの診断基準を満たさない者がいても不合理ではなく、これらの患者は本解析においてPMあるいはDMの診断基準を満たす者の中に含まれていないことになる。

本研究結果は、現在進められているPM/DMの国際診断基準案の妥当性調査の参考資料になると考える。

## E. 結論

臨床調査個人票を利用して、発病後間もない患者で、PMの診断基準を満たす者、DMの診断基準を満たす者における有所見割合を明らかにした。本研究結果は、現在進められているPM/DMの国際診断基準の妥当性の調査の参考資料に資すると考える。

## 文献

- 1) 厚生労働省大臣官房統計情報部編：保健・衛生行政業務報告（衛生行政報告例）（平成15、16、17、18、19、20年度）
- 2) 厚生労働省大臣官房統計情報部編：衛生行政報告例（平成21、22、23年度）

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Ohta A, Nagai M, Nishina M, Tomimitsu H, Kohsaka H. Prevalence and Incidence of Polymyositis and Dermatomyositis in Japan. Mod Rheumatol. (in press)

### 2. 学会発表

なし

## 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

表1 臨床調査個人票入力率(強皮症と皮膚筋炎及び多発性筋炎の2疾患を併せた入力率、2013年7月現在)

年度	入力件数	特定疾患医療受給者数証所持者数*	入力率†	登録者証所持者数*
2003	20,162	31,829	0.633	
2004	21,708	32,944	0.659	446
2005	22,056	34,592	0.638	772
2006	20,031	36,110	0.555	1,104
2007	19,180	37,975	0.505	1,402
2008	26,295	39,970	0.658	1,275
2009	33,959	41,648	0.815	1,396
2010**	29,298	42,233	0.694	1,457
2011	34,698	45,833	0.757	1,610
2012	27,137		0.592	

\*各年度末現在の所持者数 保健・衛生行政業務報告例による

\*\*注:2010年度は東日本大震災の影響により、宮城県及び福島県が含まれていない。

†入力率=各年度の強皮症と皮膚筋炎及び多発性筋炎の臨床調査個人票入力件数の合計/各年度の保健・衛生行政業務報告による強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎の特定疾患医療受給者数証所持者数

表2 PM、DMの診断基準を満たす/満たさない受給者数、2011年度新規、発病後期間別

	新規							
	PM基準		DM基準		満たさない		合計	
	n	%	n	%	n	%	n	%
総数	659	39.5	778	46.6	231	13.8	1,668	100
発病後期間(年)								
不明	41	38.0	27	25.0	40	37.0	108	100
0	352	35.2	557	55.6	92	9.2	1,001	100
1	125	45.8	112	41.0	36	13.2	273	100
2	40	49.4	28	34.6	13	16.0	81	100
3	22	52.4	13	31.0	7	16.7	42	100
4	12	42.9	10	35.7	6	21.4	28	100
5-9	42	57.5	17	23.3	14	19.2	73	100
10-14	11	36.7	6	20.0	13	43.3	30	100
15-19	5	27.8	4	22.2	9	50.0	18	100
20-	9	64.3	4	28.6	1	7.1	14	100

表3 PM、DMの診断基準を満たす/満たさない受給者数、2011年度新規(発病後1年未満)、性別、年齢別

	新規(発病後1年未満)							
	PM基準		DM基準		満たさない		計	
	n	%	n	%	n	%	n	%
総数	352	100	557	100	92	100	1,001	100
性別								
男	124	35.2	209	37.5	41	44.6	374	37.4
女	228	64.8	348	62.5	51	55.4	627	62.6
年齢								
0-17	4	1.1	19	3.4	2	2.2	25	2.5
18-39	45	12.8	68	12.2	10	10.9	123	12.3
40-59	103	29.3	199	35.7	35	38.0	337	33.7
60-	200	56.8	271	48.7	45	48.9	516	51.5

表4 皮膚症状有所見割合、2011年度新規(発病後1年未満)

	DM基準		全体	
	総数	割合	総数	割合
1. 皮膚症状				
aヘリオトロープ疹	312	56.0	350	35.0
bゴットロン徴候	455	81.7	518	51.7
c四肢伸側の紅斑	446	80.1	503	50.2

表5 臨床症状有所見割合、2011年度新規(発病後1年未満)

	新規(発病後1年未満)							
	PM基準		DM基準		満たさない		合計	
	n	%	n	%	n	%	n	%
総数	352	100	557	100	92	100	1,001	100
臨床所見								
2. 上肢又は下肢近位筋の筋力低下	339	96.3	518	93.0	34	37.0	891	89.0
3. 筋肉の自発痛又は把握痛	272	77.3	490	88.0	23	25.0	785	78.4
4. 血清中筋原性酵素の上昇	342	97.2	516	92.6	59	64.1	917	91.6
5. 筋電図の筋原性変化	217	61.6	248	44.5	8	8.7	473	47.3
(5. 不明を除いた有所見割合)	(不明 27.8%)		(不明 44.7%)		(不明 66.3%)		(不明 40.8%)	
6. 骨破壊を伴わない関節炎又は関節痛	137	38.9	278	49.9	19	20.7	434	43.4
7. 全身性炎症所見								
a. 発熱	138	39.2	322	57.8	32	34.8	492	49.2
b. CRP上昇	234	66.5	389	69.8	45	48.9	668	66.7
c. 赤沈亢進	210	59.7	342	61.4	28	30.4	580	57.9
8. 抗Jo-1抗体陽性	71	20.2	67	12.0	10	10.9	148	14.8
9. 筋生検で筋炎の病理所見	175	49.7	156	28.0	9	9.8	340	34.0
筋線維の変性及び細胞浸潤	(不明 39.2%)		(不明 59.8%)		(不明 72.8%)		(不明 53.7%)	
(9. 不明を除いた有所見割合)	86.6		72.9		42.9		77.8	
10. 間質性筋炎	181	51.4	309	55.5	59	64.1	549	54.8

参考表: 1992年厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班による診断基準

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-125a-5p の低下と proteasome subunit beta type 9 (PSMB9) の増加の組み合わせに着目した。PSMB9 は MHC class I 分子抗原プロセッシングに関与する免疫プロテアソームの構成成分と考えられており、免疫染色では皮膚筋炎皮膚の単核球で発現していた。Real-time PCR による検討では、正常皮膚や鑑別疾患である尋常性乾癬やアトピー性皮膚炎皮膚に比べて皮膚筋炎皮膚において PSMB9 mRNA が有意に増加していたが、SLE 皮膚と皮膚筋炎皮膚の間には統計学的な有意差をみとめなかった。

genome-wide association study において皮膚筋炎と MHC region の SNP に強い相関を認める事、PSMB9 と同じ免疫プロテアソームの構成成分である PSMB8 のホモ変異にて自己炎症症候群の一つである中條-西村症候群が生じ、SLE に似た凍瘡様皮疹や筋炎・ヘリオトロープ疹様皮疹を呈する事を考えると、皮膚筋炎や SLE の皮疹の形成に miR-125-5p の減少・PSMB9 の発現増加が関与している可能性がある。

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 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' 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 2,500 種類近くの microRNA が存在し、60%以上の遺伝子を制御する。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。我々は一昨年度の班会議において、皮膚筋炎・筋無症候性皮膚筋炎における Gotttron 丘疹の表皮では miR-223 の発現が減少しており、target である PKC-ε の発現増加を通じて Gotttron 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。また、昨年度の班会議では皮膚筋炎表皮におけるムチンのコア蛋白 (Versican・Aggrecan) の増加と miR-124 の低下の組み合わせに注目

した。これら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や SLE 皮膚に比べてヘパラン硫酸の硫酸化アミノ基二糖が有意に減少すると同時に 6 硫酸/硫酸化アミノ基二糖が有意に増加しており、microRNA-target-ムチンの組み合わせが皮膚筋炎の診断に役立つ可能性を報告した。本年度は本疾患の病態にかかわる microRNA-target の検索のため、炎症細胞で変化している可能性のある分子と microRNA の関係を調べた。

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。

(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-125a-5p の低下と proteasome subunit beta type 9 (PSMB9) の増加の組み合わせに着目した。PSMB9 は MHC class I 分子抗原プロセッシングに関与する免疫プロテアソームの構成成分と考えられており、免疫染色では皮膚筋炎皮膚の単核球で発現していた(図 1)。正常皮膚 19 例、DM 皮膚 26 例および SLE 皮膚 21 例などのパラフィン切片から mRNA を抽出し、real-time PCR で PSMB9 の発現を定量したところ、正常皮膚や鑑別疾患である尋常性乾癬やアトピー性皮膚炎皮膚に比べて皮膚筋炎皮膚において PSMB9 mRNA が有意に増加していたが、SLE 皮膚と皮膚筋炎皮膚の間には統計学的な有意差をみとめなかった(図 2)。最後に、PSMB9 がどのような症例で増加しているかを比較検討した。男女別の比較や皮疹の部位別の比較では大きな差を認めなかったが(図 3, 4)、液状変性の強い症例と弱い症例に分けて変更したところ最も大きな差が見られた(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-125-5p が減少している
- ・ DM 皮膚では正常皮膚や鑑別疾患に比べて PSMB9 mRNA が有意に増加していた
- ・ SLE 皮膚と DM 皮膚の間には統計学的な有意差をみとめなかった
- ・ 特に液状変性を伴う組織像を有する皮疹において上昇傾向が見られた

PSMB9 の増加は皮膚筋炎皮膚炎症細胞に真に特異的な変化とは言えず、SLE 皮膚でも発現増加を認めた。しかし、genome-wide association study において皮膚筋炎と MHC region の SNP に強い相関を認める事、PSMB9 と同じ免疫プロテアソームの構成成分である PSMB8 のホモ変異にて自己炎症症候群の一つである中條-西村症候群が生じ、SLE に似た凍瘡様皮疹や筋炎・ヘリオトロープ様皮疹を呈する事を考えると、皮膚筋炎や SLE の皮疹の形成に miR-125-5p の減少・PSMB9 の発現増加が関与している可能性がある。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

皮膚筋炎の診断には miR-124-コア蛋白-ムチンの組み合わせが有用である一方、病態には miR-125-5p の減少-PSMB9 の発現増加が関与する可能性が示された。

## 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 25 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: 免疫染色による皮膚筋炎皮膚組織におけるPMSB9蛋白発現の検出。左; 弱拡大、右; 強拡大

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PMSB9 mRNA 発現の検出。

図3: 男女別の解析。

図4: 皮疹の部位別の解析。

図5: 皮疹の組織学的特徴別の解析。

図4

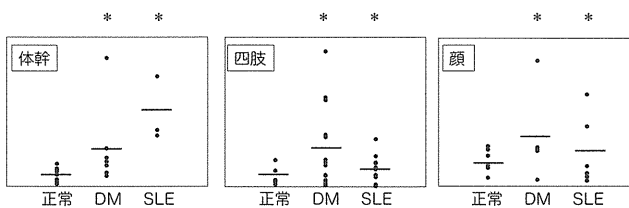


図5

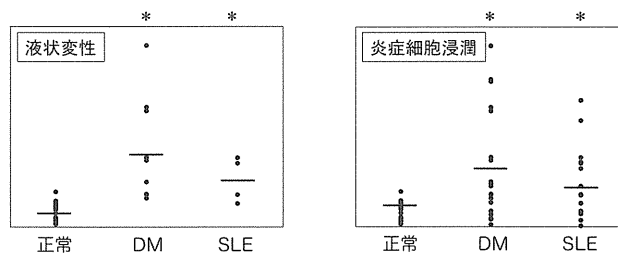


図1

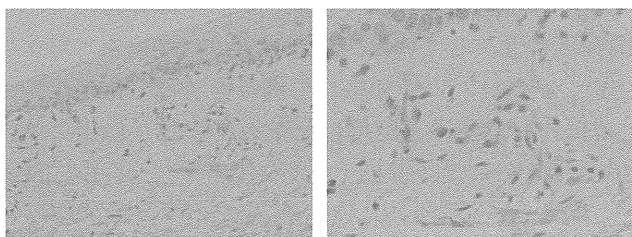


図2

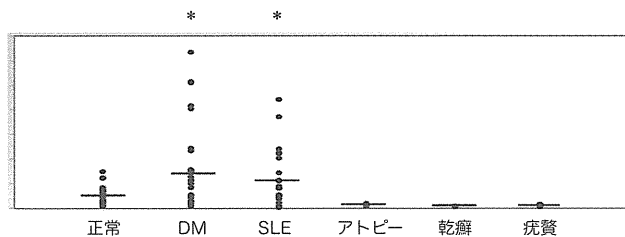
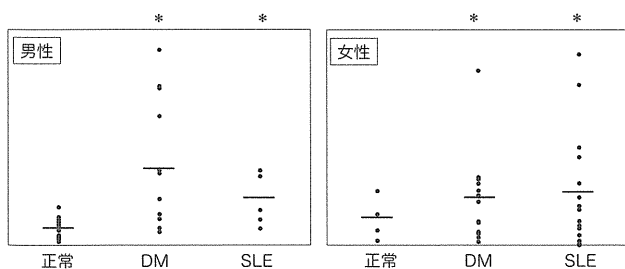


図3



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

マウス多発筋炎モデルにおける L-selectin の役割に関する研究

研究分担者	藤本 学	筑波大学医学医療系皮膚科学	教授
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	准教授
研究協力者	大石 京介	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	医員
研究分担者	上阪 等	東京医科歯科大学膠原病リウマチ内科	教授

研究要旨

マウス多発筋炎モデルである C タンパク誘導筋炎モデルは、ヒト多発筋炎のマウスモデルとして用いられている。本研究では、C タンパク誘導筋炎モデルにおける接着分子 L-selectin の役割を検討することを目的とした。野生型マウス、L-selectin 欠損マウス (L-selectin<sup>-/-</sup>)、ICAM-1 欠損マウス (ICAM-1<sup>-/-</sup>)、L-selectin と ICAM-1 の両者を欠損したマウス (L-selectin<sup>-/-</sup>ICAM-1<sup>-/-</sup>) に C タンパクを免疫して筋炎を誘導し、筋炎の重症度、炎症細胞浸潤について検討した。また、L-selectin と P-selectin の活性を阻害する化合物である dPGS による筋炎抑制効果についても検討した。L-selectin<sup>-/-</sup>マウス、L-selectin<sup>-/-</sup>ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスでは野生型マウスに比べ、筋炎は有意に抑制されていた。ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスでも野生型マウスに比べ筋炎の重症度は低下していたが、有意差はなかった。野生型マウスの T 細胞を移入した L-selectin<sup>-/-</sup>マウスは筋炎を発症した。C タンパクを免疫して筋炎を誘導した野生型マウスに dPGS を投与した群では、コンロトールを投与した群に比べ筋炎の重症度は低下していた。以上より、L-selectin は ICAM-1 よりも C タンパク誘導筋炎モデルにおいて重要な役割を果たしていると考えられ、L-selectin は多発筋炎の治療標的となり得る可能性があると考えられた。

A.研究目的

多発筋炎は慢性に経過する自己免疫性炎症性筋炎であり、主に四肢近位筋が障害され筋力低下を引き起こす。その病態は十分に明らかにされていないが、CD8 陽性 T 細胞が重要な役割を果たしていることが報告されている。近年、ミオシン結合タンパクである C タンパクをマウスに免疫して筋炎を誘導する C タンパク誘導筋炎モデルが開発された。このモデルでは CD8 陽性 T 細胞が病態に大きく関与しており、ヒト多発筋炎のマウスモデルとして利用されている。

細胞接着分子として代表的なものに L-selectin と ICAM-1 があり、両者は白血球が炎症組織に浸潤するのに重要な役割を果たす。L-selectin と ICAM-1 の役割は同一ではなく、炎症への貢献度はモデルにより異なることが報告されている。今回われわれは、多発筋炎のマウスモデルである C タンパク誘導筋炎モデルを用いて、筋炎における L-selectin と ICAM-1 の役割について検討した。

B.研究方法

1) C タンパク誘導筋炎の作成

野生型マウス、L-selectin 欠損マウス (L-selectin<sup>-/-</sup>)、ICAM-1 欠損マウス (ICAM-1<sup>-/-</sup>)、L-selectin と ICAM-1 の両者を欠損したマウス (L-selectin<sup>-/-</sup>ICAM-1<sup>-/-</sup>) に C タンパクを免疫して筋炎を誘導した。

2) 筋炎、炎症細胞浸潤の評価

筋炎誘導 14 日後に筋組織を採取し、筋炎の重症度、炎症細胞浸潤について組織学的に評価した。

3) T 細胞移入実験

野生型マウスの脾臓から T 細胞を精製し、 $8 \times 10^6$  個の精製した T 細胞を L-selectin<sup>-/-</sup>マウスに移入した。T 細胞を移入した 24 時間後に C タンパクを免疫して筋炎を誘導し、筋炎誘導 14 日後に筋炎の重症度、炎症細胞浸潤について組織学的に評価した。



#### 4) dPGS による治療実験

L-selectin と P-selectin の活性を阻害する化合物である dPGS の治療的効果についても検討した。野生型マウスに C タンパクを免疫し、免疫 3 日後から連日 dPGS あるいはコントロールを投与し、免疫 14 日後に筋炎の重症度、炎症細胞浸潤について組織学的に評価した。

#### 5) 倫理面への配慮

本研究は金沢大学動物実験委員会および金沢大学遺伝子組換え実験安全委員会の承認を得たのち、金沢大学動物実験規定に則って行われた。

### C. 研究結果

#### 1) L-selectin 欠損は筋炎の重症度を軽減した

最初に、野生型マウス、L-selectin<sup>-/-</sup>マウス、ICAM-1<sup>-/-</sup>マウス、L-selectin<sup>-/-</sup>ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスにおける筋炎の重症度を評価した。L-selectin<sup>-/-</sup>マウス、L-selectin<sup>-/-</sup>ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスでは野生型マウスに比べ、筋炎の重症度は有意に軽減していた。ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスでも野生型マウスに比べ筋炎は軽減していたが、その程度は有意ではなかった。L-selectin<sup>-/-</sup>マウス、L-selectin<sup>-/-</sup>ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスでは ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスに比べ筋炎は有意に軽減していた。以上より、L-selectin は C タンパク誘導筋炎モデルにおいて、その発症に重要な役割を果たしていると考えられた。一方、ICAM-1 の役割は L-selectin に比べ低いと考えられた。

#### 2) L-selectin 欠損は筋組織における炎症細胞浸潤を減少させる

次に、野生型マウスと L-selectin<sup>-/-</sup>マウスの筋組織における炎症細胞浸潤について検討した。L-selectin<sup>-/-</sup>マウスでは野生型マウスに比べ、筋組織に浸潤している CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞とも有意に減少していた。また、Gr-1 陽性好中球、F4/80 陽性マクロファージの浸潤も減少していた。

#### 3) 野生型マウスの T 細胞を L-selectin<sup>-/-</sup>マウスに移入すると筋炎が誘導される

L-selectin はほぼすべての白血球上に発現している。そこで、T 細胞上の L-selectin 発現が筋炎誘導に重要かどうかを調べるため、移入実験を行った。野生型マウ

スの T 細胞を移入した L-selectin<sup>-/-</sup>マウスに筋炎を誘導したところ、T 細胞を移入しなかった L-selectin<sup>-/-</sup>マウスに比べ有意に筋炎が誘導された。炎症細胞浸潤数の検討でも、野生型マウスの T 細胞を移入した L-selectin<sup>-/-</sup>マウスでは T 細胞を移入しなかった L-selectin<sup>-/-</sup>マウスに比べ、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞とも有意に浸潤が増加していた。したがって、C タンパク誘導筋炎モデルでは T 細胞上の L-selectin 発現が重要であることが明らかになった。

#### 4) dPGS 投与により筋炎の重症度は軽減した

dPGS は L-selectin と P-selectin の活性を阻害する化合物である。筋炎の治療として L-selectin が標的となり得るかを検討するため、C タンパク誘導筋炎モデルにおける dPGS の効果を検討した。C タンパクを免疫して 3 日後から dPGS を投与した群では、コントロールを投与した群に比べて筋炎の重症度は軽減し、筋組織に浸潤している CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞も減少していた。したがって、L-selectin は筋炎治療の標的になり得ると考えられた。

### D. 考察

L-selectin は白血球上に発現し、一方 ICAM-1 は血管内皮上に発現する細胞接着分子であり、L-selectin と ICAM-1 は協調しながら炎症局所における白血球浸潤に関与している。L-selectin と ICAM-1 の関与の割合はそれぞれの疾患モデルによって異なっているが、一般的に ICAM-1 の方が重要な役割を果たしていることが多い。例えば、創傷治癒モデルにおいては L-selectin が欠損しても創傷治癒は阻害されないが、ICAM-1 が欠損すると創傷治癒は遅延する。しかし、本研究で検討した C タンパク誘導筋炎モデルでは、筋炎の重症度、筋組織への細胞浸潤とも L-selectin<sup>-/-</sup>マウスの方が ICAM-1<sup>-/-</sup>マウスより抑制されており、病態への関与は ICAM-1 より L-selectin の方が有意だった。この理由の一つとして、C タンパク誘導筋炎モデルでは CD8 陽性 T 細胞が CD4 陽性 T 細胞より主要な役割を有しており、L-selectin は CD4 陽性 T 細胞と比較し CD8 陽性 T 細胞により高発現しているからという可能性が考えられた。

L-selectin は T 細胞のみならず好中球やマクロファージなどの白血球全般に発現している。本研究では、

L-selectin<sup>-/-</sup>マウスの筋組織ではT細胞のみならず好中球、マクロファージの浸潤も低下していた。野生型マウスのT細胞を移入したL-selectin<sup>-/-</sup>マウスでは筋炎が誘発されたことから、T細胞上に発現しているL-selectinの発現が筋炎の発症に重要であると考えられた。しかし、これまでの報告で、筋炎の発症にはT細胞の活性化のみならず炎症が生じる筋組織の局所免疫環境も重要であることが報告されている。従って、L-selectin<sup>-/-</sup>マウスで筋炎の重症度が軽減していたのは、筋組織への炎症細胞浸潤が抑制されていた以外に、L-selectin<sup>-/-</sup>マウスの筋組織自体に免疫学的な問題点があった可能性がある。

これまで多発筋炎に対する治療としてステロイド薬が主に用いられてきたが、ステロイド薬の長期服用は骨粗鬆症をはじめとして様々な副作用をもたらすことが知られており、長期に渡る安全性の観点からステロイドに代わる新たな治療法が求められている。細胞接着分子を標的とした治療法の一つに、E-、P-、L-selectinのアゴニストであるBimosiamoseがあり、乾癬で有効性が報告されている。生物製剤としてはヒト化抗L-selectin抗体であるaselizumabが開発されている。aselizumabはヒヒの外傷モデルで有効性が確認されたが、多発外傷患者を対象とした第II相臨床試験では有効性は認められなかった。一方、抗CD11a抗体であるefalizumabは乾癬に対しFDAから承認を受けたが、市販後にJCウイルスによる進行性多巣性白質脳症による死亡例が相次ぎ市場から撤退した。本研究ではL-selectinが筋炎治療の標的となる可能性が示唆されたが、細胞接着分子を阻害することによる有害事象については十分に検討する必要がある。

## E. 結論

以上の結果より、Cタンパク誘導筋炎モデルにおいて、L-selectinはICAM-1より主要な役割を有していると考えられた。今後、L-selectinを標的とした治療法が開発されることが期待される。

## F. 健康危険情報

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. Hamaguchi Y, Fujimoto M, Matsushita T, Kaji K, Komura K, Hasegawa M, Kodera M, Muroi E, Fujikawa K, Seishima M, Yamada H, Yamada R, Sato S, Takehara K, Kuwana M. Common and distinct clinical features in adult patients with anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies: heterogeneity within the syndrome. *PLoS ONE*, 2013;8:e60442.
3. Ito K, Imafuku S, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Nakayama J. Case report of anti-transcription intermediary factor-1- $\gamma/\alpha$  antibody-positive dermatomyositis associated with gastric cancer and immunoglobulin G4-positive pulmonary inflammatory pseudotumor. *J Dermatol*, 2013;40:567-9.
4. Kasuya A, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Tokura Y. TIF1 $\gamma$ -overexpressing, highly progressive endometrial carcinoma in a patient with dermatomyositis positive for malignancy-associated anti-p155/140 autoantibody. *Acta Derm Venereol*, 2013;93:715-6.
5. Ueda-Hayakawa I, Kusuyama T, Isei T, Ozaki Y, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Takehara K, Okamoto H. Cutaneous necrotizing vasculitis in a patient with dermatomyositis positive for anti-PL-7 antibody. *Eur J Dermatol*. 2013;23:889-90.

## 2. 学会発表

なし

## 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

抗 MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5) 抗体陽性皮膚筋炎に  
おける抗体価の推移と生命予後との関連に関する研究

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・医員  
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

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。DM または臨床的に筋症状のない DM (CADM) に特異的に検出される抗 MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5) 抗体は急速進行性の間質性肺炎 (IP) を高率に合併し、しばしば治療に不応性で予後不良である。今回、我々は抗 MDA5 抗体測定 ELISA を用いて IP を合併した抗 MDA5 抗体陽性 DM/CADM 症例を対象に抗体価の推移と予後との関連について追求した。治療前および治療導入後の抗 MDA5 抗体の抗体価について比較したところ、死亡群では治療前で有意に高く、治療導入によっても低下しない傾向にあった。一方生存群では全例で抗体価が治療導入後に低下した。これらの結果を踏まえ、強力な免疫抑制療法に治療抵抗性を示した症例に対して血漿交換療法を併用施行したところ、速やかに血清フェリチン値の改善を認め、IP の病勢コントロールが可能となった。治療抵抗性を示す症例において血漿交換療法が救命率を向上させる可能性が示唆された。また、抗体除去療法の有効性が示されたことで、抗体自身が病原性を持つ可能性が考えられた。

A. 研究目的

多発性筋炎 (PM) および皮膚筋炎 (DM) では患者血清中から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。抗 MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated protein 5) 抗体は DM または臨床的に筋症状のない DM (CADM) に特異的に検出され、高率に急速進行性の間質性肺炎 (IP) を合併し、しばしば治療に不応性で予後不良である。今回、我々は IP を合併した抗 MDA5 抗体陽性 DM/CADM 症例を対象に抗体価の推移と予後との関連について追求した。

B. 研究方法

[<sup>35</sup>S]メチオニン標識 HeLa 細胞を用いた免疫沈降法で抗 MDA5 抗体陽性と判定された DM および CADM の 20 例を対象とした。抗 MDA5 抗体の抗体価は MDA5 の C 末端リコンビナント蛋白を用いて ELISA を作成した。治療前の抗体価の測定は全 20 例を対象に、抗体価の推移については継時的に血清の入手可能であった 16 例を対象として、生存例と死亡例に層別化して比較検討を行った。3 剤併用療法 (ステロイド大量、シクロスポリン、シクロホスファミド間歇静注) に抵抗性を示した抗 MDA5 抗体陽性 DM-IP の 1 症例に対して血漿交換療法を施行した。  
(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

治療前の抗 MDA5 抗体価は生存群 (12 例) において死亡群 (8 例) よりも有意に高値を示した (114.4±11.4 vs 102.8±9.3AU/ml, p=0.0225) (図 1)。

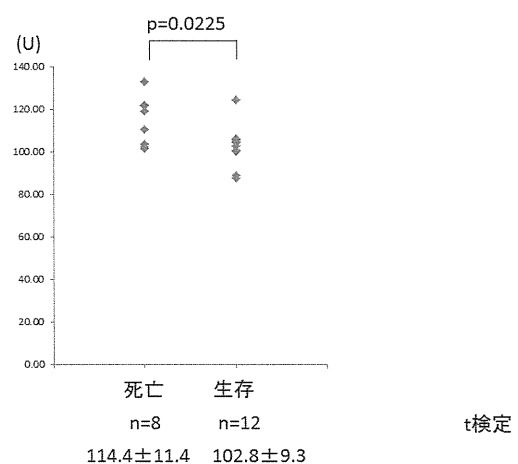


図 1. 抗 MDA5 抗体陽性例における生存例と死亡例間での治療前抗体価の差

経時的に血清を採取しえた 16 例について抗 MDA5 抗体価の推移を比較したところ、死亡群（4 例）では経過観察期間が短いものの抗体価は低下しない傾向にあった。一方、生存群（12 例）では、治療前の抗体価と比較して一部の症例で治療導入 4 週後から速やかに低下を認め、治療介入 8 週後以降で有意に低下を示した（開始前  $99.9 \pm 16.2$ 、4 週後  $99.2 \pm 19.2$  ( $p=0.1361$ )、8 週後  $87.8 \pm 43.6$  ( $p=0.018$ )）（図 2）。生存例における抗体価の cut off 値以下への低下は、早い症例では治療導入 8 週以降に、多くの症例で 12 週以降に達成された。また発症後 1 年を経過した 6 例中 5 例で cut off 値以下となった。

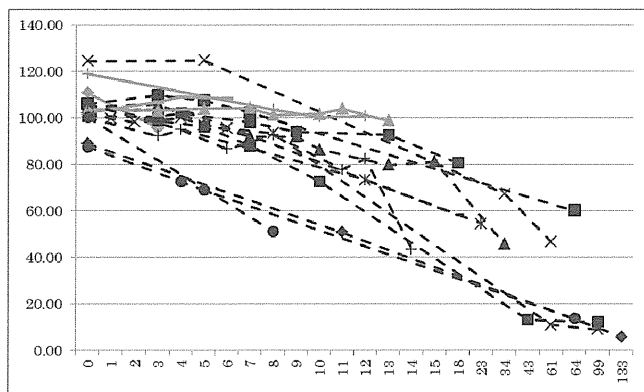


図2. 抗 MDA5 抗体陽性例 16 例の抗体価の推移  
— 死亡例、— 生存例を示す。

これらの結果を踏まえ、3 剤併用療法によっても IP の増悪傾向を示した抗 MDA5 抗体陽性 DM-IP 症例に対して、治療開始 8 週目より週 1 回の血漿交換療法を併用施行したところ、速やかに血清フェリチン値の改善を認め、IP の病勢コントロールが可能となった（図 3）。

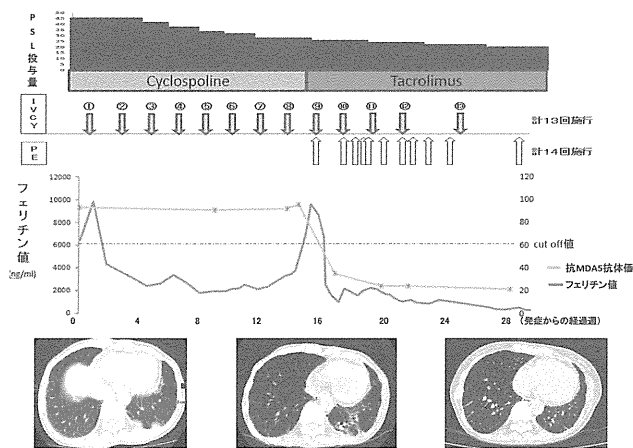


図3. 治療抵抗症例に対する血漿交換療法の経過

## D. 考察

抗 MDA5 抗体陽性 DM/CADM に合併する IP はしばしば治療抵抗性を示して予後不良であり、発症後 6 か月以内に生命予後が決定される。今回我々は抗 MDA5 抗体価が疾患活動性の指標となり、特に治療開始 4 週から 8 週後以降より有意に低下することを示し、治療に対する反応性を短期間で判断する上で極めて有用な指標であると考えられた。また、抗体自身の病原性は未だ明らかにされていないが、生存症例ではいずれも抗体価の低下が認められたこと、治療抵抗性を示した症例に対する抗体除去療法が疾患活動性の改善に有効であったことから、抗体自身が病原性を持つ可能性が考えられる。強力な免疫抑制療法に治療抵抗性を示す症例に対して血漿交換療法を併用することで救命率の向上が期待される可能性が示唆された。

## E. 結論

抗 MDA5 抗体価の推移と予後に密接な関連性が認められ、その抗体価の測定は治療効果の指標として重要な役割を果たす。抗体自身が病原性を有する可能性が考えられ、治療抵抗症例に対して抗体除去療法により救命率の向上が期待できる。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nakashima R, Imura Y, Hosono Y, Seto M, Murakami A, Watanabe K, Handa T, Mishima M, Hirakata M, Takeuchi T, Fujio K, Yamamoto K, Kohsaka H, Takasaki Y, Enomoto N, Suda T, Chida K, Hisata S, Nukiwa T, Mimori T: The Multicenter Study of a New Assay for Simultaneous Detection of Multiple Anti-Aminoacyl-tRNA Synthetases in Myositis and Interstitial Pneumonia. *PLoS One*. 2014 Jan 14;9(1)
- 2) Ozaki T, Yamashita H, Hosono Y, Nakashima R, Mimori T, Takahashi Y, Kaneko H, Kano T, Mimori A.: Two patients in the same family with anti-ARS antibody-associated *Mod Rheumatol*. 2013 Oct 21. [Epub ahead of print]
- 3) Nakashima R, Mimori T.: Anti-MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5) antibody and dermatomyositis with rapidly progressive interstitial pneumonia. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2013;36(2):71-6.
- 4) Ishigaki K, Maruyama J, Hagino N, Murota A, Takizawa Y, Nakashima R, Mimori T, Setoguchi K.: Skin ulcer is a predictive and prognostic factor of acute or subacute interstitial lung disease in dermatomyositis. *Rheumatol Int*. 2013 Sep;33(9):2381-9.
- 5) Tanizawa K, Handa T, Nakashima R, Kubo T, Hosono Y, Aihara K, Ikezoe K, Watanabe K, Taguchi Y, Hatta K, Oga T,