

(甲種)

論 文 要 旨

学 位 論 文 (要約)

表 題 多発性筋炎・皮膚筋炎における新規バイオマーカーの検索

申 請 者 氏 名 渡邊 萌理

担当指導教員氏名 教授 小竹 茂

所 属 自治医科大学大学院医学研究科  
地域医療学系  
総合医学  
内科系総合医学

使用文字数 2485 字

## 論 文 要 旨

氏名 渡邊 萌理

表題

多発性筋炎・皮膚筋炎における新規バイオマーカーの検索

### 1 研究目的

多発性筋炎・皮膚筋炎 (polymyositis/dermatomyositis; PM/DM) は骨格筋の炎症と変性を主徴とする自己免疫疾患であり、皮膚、関節、肺、心臓など複数の臓器に炎症を及ぼす。PM/DM の病因は、遺伝性、環境因子、免疫原性など多面的な要因が関与していると考えられているが、未だ十分な解明に至っていない。CD146 は細胞接着分子の免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜貫通型糖蛋白である。血管内皮細胞上に恒常的に発現し、vascular endothelial growth factor 受容体や CD44 分子と細胞膜上で会合し、細胞の接着、細胞単層の維持、炎症細胞遊走および血管新生に関わっている。リンパ球 (T 細胞、B 細胞、NK 細胞) にも発現がみられ、CD146 陽性 T 細胞は炎症性サイトカインを分泌し、炎症性疾患の病態に関与していることが報告されている。また、血管内皮細胞の細胞膜上で CD146 と結合する分子に  $\beta$ -galactosidase-binding lectin family に属する galectin-3 がある。galectin-3 は上皮細胞、血管内皮細胞、全ての炎症細胞 (マクロファージ、単球、好中球、T 細胞など)、などに発現し、細胞のアポトーシスや、細胞接着、遊走、血管新生、炎症など様々な生物学的活性を有する。CD146、galectin-3 共に一部の自己免疫疾患において発現が報告されており、その病態に係る因子として注目されている。本研究では CD146 と galectin-3 の PM/DM との関連を調べ、血清中の soluble CD146 (sCD146)、galectin-3、並びにそれらの自己抗体が、PM/DM の疾患活動性や臨床病態を示すバイオマーカーとなる可能性について検討を行った。

### 2 研究方法

患者血清と健常者 (HC) 血清を用いて、sCD146、抗 CD146 抗体、galectin-3、抗 galectin-3 抗体をそれぞれ特異的な ELISA を用いて測定した。sCD146 の測定は sandwich ELISA 法を構築し測定系を確立した。抗 CD146 抗体は A375 と human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) を用いたフローサイトメトリーを用いて存在を検証した後、抗 CD146 抗体の定量を目的とした direct ELISA を構築し測定を行った。Galectin-3 の測定は ELISA kit を用いて測定し、抗 galectin-3 抗体の測定は direct ELISA を構築し測定を行った。また、それぞれの蛋白について、PM/DM 患者の臨床所見、血清学的データ、血清サイトカイン、筋炎特異抗体との関連を調べた。さらに、CD146 と galectin-3 の組織中での発現部位を検討するために、患者検体を用いて免疫組織染色を行った。

### 3 研究成果

血清 sCD146 は PM 患者において DM 患者や HC と比較して有意な上昇がみられたが、PM/DM の臨床所見との関連は示さなかった。PM/DM 患者血清中の抗 CD146 抗体の存在を証明するべく、A375 と HUVEC を用いたフローサイトメトリーを行ったところ血清抗 CD146 抗体を確認する事が出来た。さ

らに、抗 CD146 抗体測定を目的とした direct ELISA を構築し測定を行ったところ、抗 CD146 抗体は DM 患者において PM 患者や HC と比較して有意に高値で存在する事が判明した。また、抗 CD146 抗体は疾患活動性と伴に低下し、一方 sCD146 は疾患活動性と伴に上昇する傾向がみられた。また患者組織において CD146 の発現部位を検討すべく免疫染色を行ったところ、皮膚炎、ILD 組織の増生した小血管の血管内皮細胞に陽性像を認めた。

血清 galectin-3 値については、PM/DM 患者において HC より有意な上昇を見せた。また、血清 galectin-3 は炎症性サイトカインや、C-reactive protein や赤血球沈降速度などの血清炎症マーカーと有意な相関をみせた。臨床所見との関連においては、間質性肺炎 (ILD) を有する群で血清 galectin-3 値は有意に高値となり、中でも acute/subacute interstitial pneumonia (A/SIP) は chronic interstitial pneumonia より有意な高値を示した。さらに、血清 galectin-3 値は ILD の画像的評価とも相関がみられた。疾患活動性との変化においては、血清 galectin-3 値は Myositis Intention to Treat Activities Index との有意な相関を示した他、疾患活動性と伴に有意に低下する事が判明した。Galectin-3 免疫染色では、皮膚炎、筋炎組織の炎症細胞に、ILD 組織の炎症細胞と線維化部位に陽性像が認められ、それぞれに galectin-3 の発現が示唆された。

抗 galectin-3 抗体においては DM 患者において PM 患者や HC より有意な上昇が認められ、疾患活動性と伴に低下する事が判明した。

#### 4 考察

sCD146 の測定においては過去の報告と同様に PM 患者において有意な上昇をみとめた。しかし sCD146 が DM 患者で有意な上昇が認められないという結果は、DM の炎症の首座が筋線維束周囲の小血管にあり PM より血管障害性が強い疾患であることから理論的には説明が困難な結果であった。そこで、DM 患者血清中に抗 CD146 抗体が存在し sCD146 の測定系に影響している、と仮説を立て、A375 と HUVEC への反応性の結果を経て、抗 CD146 抗体測定のための ELISA を構築し定量を行った。抗 CD146 抗体は本研究において初めて存在を証明し、DM 患者において有意な高値を示すことが判明した。また、疾患活動性に伴い抗 CD146 抗体が低下し、反対に sCD146 が上昇する傾向がみられ、抗 CD146 抗体と sCD146 の動態が疾患活動性を反映する指標になり得る可能性が考えられた。

Galectin-3 は炎症性サイトカインを介した炎症性病態に関与する他、transforming growth factor- $\beta$  を介して線維化に係り、ILD の病因に関与する事が報告されている。PM/DM 患者においても、血清 galectin-3 値は PM/DM の病因に関与する炎症性サイトカインとの有意な関連を示し、線維化病態として PM/DM-ILD との関連を示した。さらに、galectin-3 は PM/DM-ILD 患者における A/SIP の判別に有用であり、且つ ILD の重症度とも相関する有意なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。疾患活動性との変化においてもベースラインの疾患活動性を反映し、活動性と伴に有意に変化するため、PM/DM の疾患活動性の指標にもなり得ると考えられる。

抗 galectin-3 抗体においては、本研究において新規にリコンビナント蛋白を用いた ELISA で測定を可能とした。抗 galectin-3 抗体は既報において SLE 患者の皮膚血管炎との関連が示唆されている。本研究において抗 galectin-3 抗体は DM 患者において PM 患者より有意に高値を示しており、PM/DM においても抗 galectin-3 抗体が皮膚血管炎と関連がある可能性が考えられる。

#### 5 結論

血清 sCD146、抗 CD146 抗体、galectin-3、抗 galectin-3 抗体についてそれぞれ PM/DM における臨床病態との関連とバイオマーカーとしての可能性を検討した。それぞれ PM/DM の機序に関連があ

(甲種)

る可能性を示唆し、PM/DM 患者の疾患活動性に応じて変化した。その中でも血清バイオマーカーとして臨床的に最も有意義な結果が認められたのは galectin-3 であった。Galectin-3 は PM/DM において炎症と線維化を反映し、中でも PM/DM-ILD 患者において有用なバイオマーカーになると考えられる。本研究の結果について将来的にはより大きな母集団での再検証を必要とする他、今回新規に判明した抗 CD146 抗体や、抗 galectin-3 抗体に関してはより詳細なメカニズムを明らかにする必要がある。