東海大学大学院
医学研究科

教員紹介

領域（医学部組織）
リウマチ内科

専門分野キーワード
リウマチ・膠原病学

教員氏名　佐藤　慎二
取得学位　博士（医学）
現在の身分（役職名）　教授
専門分野　リウマチ・膠原病学、臨床免疫学、免疫学
現在の研究課題　リウマチ・膠原病の発症機序の追究、リウマチ・膠原病の標的とされる自己抗原の特徴の追究、リウマチ・膠原病で見出される自己抗体の産生機序と病因的・臨床的意義の追究（特に特発性炎症性筋疾患）、血管炎症候群の病態解明、ステロイド誘発性骨粗鬆症
所属学会　日本内科学会、日本リウマチ学会（評議員）、日本臨床免疫学会（評議員）、日本臨床リウマチ学会（評議員）、日本炎症・再生医学会（評議員）、日本骨粗鬆症学会、アメリカリウマチ学会

研究内容

急速進行性間質性肺炎を併発した皮膚筋炎のバイオマーカー
（抗 CADM-140 抗体/抗 MDA5 抗体）

はじめに

多発性筋炎/皮膚筋炎(Polymyositis/ Dermatomyositis: PM/DM)患者血清中に,これまで特異的に見出される自己抗体が報告され，それらは特定の症状や病型と関連し，診断，治療法の選択，予後の推定など臨床的に有用であることが明らかにされている。その代表的なものが，抗アミノアシル t RNA 合成酵素抗体であるが，2000 年代にはいって，DM 患者血清中に，いくつかの新たな自己抗体が報告されている。抗 MDA5 抗体（対応抗原が明らかになる前は，抗 CADM-140 抗体と呼ばれていた)は，2004 年に臨床的に筋症状を認めない DM（Clinically amyopathic DM：CADM）患者血清中に見出された 140kDa 蛋白を認識する自己抗体である。

抗 MDA5 抗体陽性症例の臨床的特徴

CADM 15 例を含む DM，他の膠原病，特発性間質性肺炎および健常人 314 例を対象とした検討では，DM 患者 42 例中 8 例（19%)に同抗体を認め，全例 DM のサブタイプである CADM 症例であった（表 1）。この新たな自己抗体は，CADM に見出された 140kDa 蛋白を認識する抗体であったため，当初，抗 CADM-140 抗体と命名された。その後の症例の集積で，同抗体は CADM だけでなく古典的 DM でも認められることが明らかになった。しかしながら，DM 以外の膠原病，特発性間質性肺炎および健常人血清中には認められなかった。また，同抗体陽性 DM 例は，急速進行性間質性肺炎（Rapidly Progressive interstitial lung disease: RP-ILD）の併発が有意に高頻度で,RP-ILD との密接な関連が示された。近年，成人 DM 同様に RP-ILD を併発した小児 DM 症例にも見出されることもあきらかになった。臨床的には，RP-ILD 併発のほか発熱，多関節炎，皮膚潰瘍が高頻度であると報告されている。

抗 MDA5 抗体の臨床的意義

現在，DM に併発する RP-ILD の治療で有効性が証明された治療法はないが，これまでの報告からは，初期に炎症の進展を十分に抑えることが重要と考えられ，発症早期から大量副腎皮質ステロイドホルモンに免疫抑制薬を併用する強力な治療が推奨されている。この観点から，同抗体は RP-ILD 併発の早期予測を可能にする点で有用と考えられる。

対応抗原(MDA5)

抗 CADM-140 抗体の対応抗原の同定するため，HeLa 細胞由来 mRNA と大腸菌（XL1-Blue MRF）発現λZAP ファージで作成した cDNA ライブラリーを利用して，発現抗原蛋白質と抗 CADM-140 抗体陽性血清を反応させ，陽性クローンを探索した。さらに，同様のファージ発現系および In vitro transcription/ translation assay 系を用いて，対応抗原をコードするクローンを決定した。次に，対応抗原をコードするクローンの塩基配列を決定し，ホモロジーサーチで検索をおこなった。その結果から，対応抗原が，MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5，別名 IFIH1 : interferon induced with helicase C domain)であることが明らかになった。MDA5 は，RIG-I ファミリーに属する蛋白で，ウィルス感染時に Ⅰ型インターフェロンの誘導することで，自然免疫におけるウィルス感染防御に重要な役割を担っている蛋白分子である（図 1）。 なお，抗体の名称は対応抗原が解明された後，抗 MDA5 抗体と称されることが一般的となった。

MDA5（CADM-140 抗原）の病因的意義

ウィルス感染は，これまで炎症性筋疾患の発症要因の一つと想定されてきている。それゆえ，対応抗原が MDA5 であることは，RP-ILD 併発 DM の病態にウィルス感染が関与していること示唆する興味深い知見である。病態との関わりにおける一つの可能性として，CADM-140 抗原（MDA5）やその分解産物が，MDA5 に特異的な自己免疫現象を引きおこすことが想定され，その解明は今後の重要な課題である。

抗 MDA5 抗体の測定法

当初，同抗体の検索は，S35 メチオニンで細胞抽出物の蛋白成分をラベルして，血清と反応させる免疫沈降法でおこなわれていた。しかしながら，対応抗原が明らかになったことで，より簡便で一度に多検体測定が可能な酵素結合免疫吸着法(ELISA)が開発された。リコンビナント MDA5 を ELISA プレートに固相化しブロッキング後，血清と反応・発色させて吸光度を測定した。この測定系で，正常のカットオフ値を健常人平均値±10 倍の標準偏差とすると抗 MDA5 抗体陽性患者血清の分析感度は 85%，分析特異度は 100%であった。また，DM における陽性率は 34%(23 例/ 67 例)であった。臨床経過との関連では，治療前の抗 MDA5 抗体価は生存例では死亡例と比較して有意に低く，治療開始前の抗体価が予後推定に有用である可能性が示唆された。また，生存例の抗体価は経時的に徐々に減少して最終的には正常化したが，死亡例の抗体価は不変であったり，更に増加するなど一定の傾向を示さず，抗体価がカットオフ値以下に低下する前に死亡していた。

抗 MDA5 抗体の臨床での実用化

さらに，筆者らは実臨床での抗 MDA5 抗体測定 ELISA の確立および実用化を株式会社医学生物学研究所(MBL)と共同でおこない，2016 年 10 月から同抗体 ELISA の保険収載・販売が承認され，実臨床での保険診療における測定が可能となった（図 2）。その後，実臨床における同抗体測定 ELISA を用いた長期的経過の検討で，RP-ILD の病勢が鎮静化していても，抗体価が正常化していない症例では早期に再発すること，再燃時に抗体価が再上昇することが報告された。これらの知見は，さらなる検証が必要ではあるが，抗 MDA5 抗体測定 ELISA の実臨床での有用性を示すものと考えられる。

筋炎関連間質性肺疾患の予後因子の解析

RP-ILD は難治性病態であり，PM/DM の予後を規定する重要な因子であるが，かかる点で，ILD に併発する PM/DM の予後予測因子を同定することは PM/DM の予後を改善させるために臨床上，重要である．本邦でおこなわれた JAMI study は，PM/DM-ILD における ILD の予後不良予測因子を同定のための医師主導の多施設共同の臨床研究である．大規模な JAMI コホートを用いた最終モデルでは， 60 歳以上の高齢発症，抗 MDA5 抗体，血清 CRP 値(≧1 mg/dl)， SpO_2 (<95%)が独立した呼吸不全死の予測因子として同定された（図 3）．とりわけ，抗 MDA5 抗体陽性のハザード・リスクは 7.5 倍と高率であった．これらの因子は，同定あるいは測定可能な因子であるため，ILD の病型診断，治療方針の決定過程において有用な指標となり得る．

おわりに

抗 MDA5 抗体陽性症例の集積および臨床特徴の追求は，RP-ILD 併発 DM の早期診断，病型分類および治療法の選択などに有用で，その予後の改善が期待される。今後，さらなる新規自己抗体の発見および実臨床での実用化は，炎症性筋疾患の早期診断，治療法の選択に有用で，予後の改善につながる可能性が期待される。

表1 筋炎特異抗体・筋炎関連抗体・抗CADM-140/MDA5抗体の疾患別頻度

n(%)	PM (n=61)	DM CDM (n=27)	DM CADM (n=15)	RA (n=50)	SLE (n=46)	MCTD/OL (n=27)	SSc (n=22)	SjS (n=7)	IPF (n=43)	NHC (n=16)
MSAs										
抗ARS (抗-Jo-1)	10(16)	6(22)	0	0	0	0	0	0	0	0
抗ARS (Non 抗Jo-1)	10(16)	2(7)	0	0	0	1(4)	0	0	4(9)	0
抗-SRP	5(8)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
抗-Mi-2	0	2(7)	0	0	0	0	0	0	0	0
MAAs										
抗SSA/Ro	3(5)	3(11)	2(14)	8(16)	15(33)	6(22)	1(5)	5(71)	1(2)	0
抗U1-RNP	2(3)	2(7)	0	1(2)	18(39)	23(85)	2(9)	0	0	0
抗CADM-140	0	0	8(53)	0	0	0	0	0	0	0

PM: 多発性筋炎，DM: 皮膚筋炎，CDM: 古典的皮膚筋炎，CADM: Clinically amyopathic dermatomyositis,
RA: 関節リウマチ，SLE: 全身性エリテマトーデス，MCTD/OL: 混合性結合組織病/重複症候群,
SSc: 全身性強皮症，SjS: シェーグレン症候群，IPF: 特発性間質性肺炎，NHC: 健常人
抗ARS: 抗アミノアシルtRNA合成酵素抗体，MSAs：筋炎特異自己抗体，MAAs：筋炎関連自己抗体

図1 抗CADM-140/MDA5抗体の対応抗原：MDA5 (Melanoma Differentiation Associated Gene 5)のウィルス感染におけるの役割

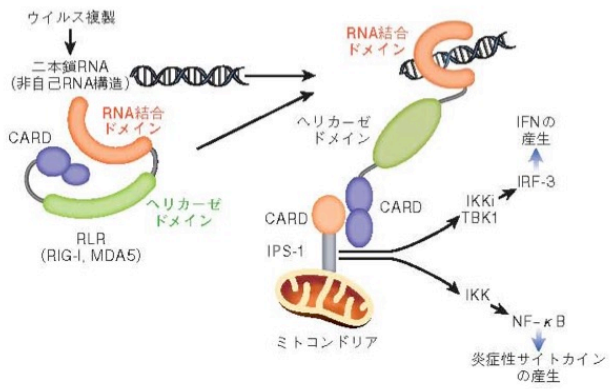
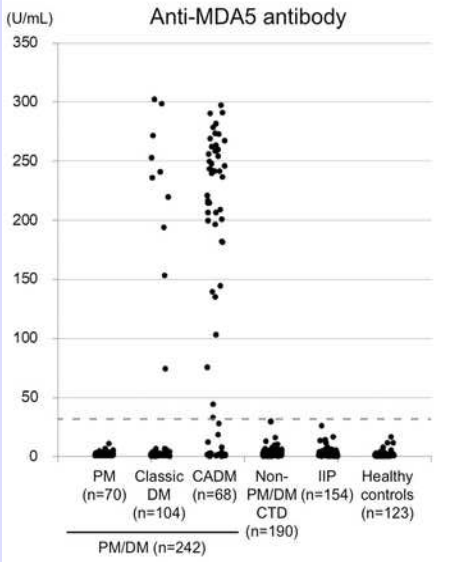


図 2 抗 MDA5 抗体 ELISA (2016.10 薬価収載)

Demographic and clinical findings	Anti-MDA5 positive (n = 55)
Age at onset, mean ± SD	50.8 ± 14.3
Female, %	72.7
DM subgroup	
Classic DM, %	18.2
CADM, %	81.8
ILD overall, %	90.9
ILD type	
RP-ILD, %	83.6
Chronic ILD, %	7.3
Gottron's sign, %	87.3
Heliotrope rash, %	49.1
Arthritis, %	65.5
Fever, %	61.8
Malignancy, %	5.5

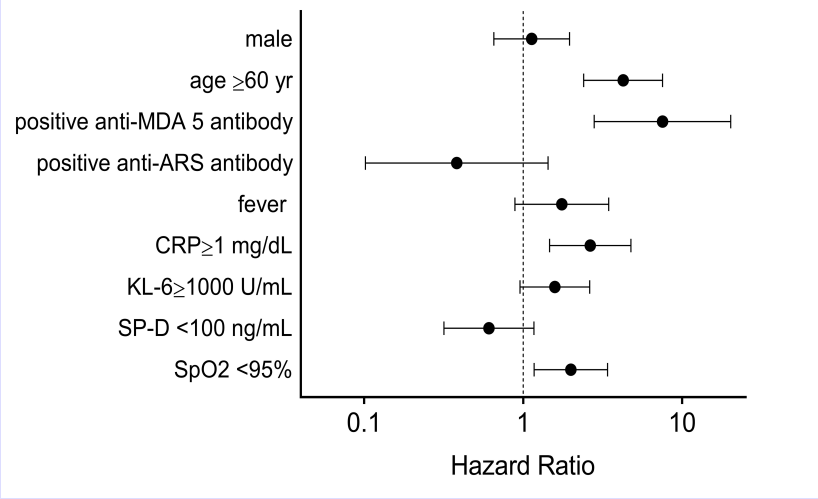


分析感度：98.2%, 分析得意度：100%

陽性的中率：100%, 陰性的中率：99.5%

RP-ILD：急速進行性間質性肺炎

図３　間質性肺疾患を併発した PM/DM の予後予測モデル



主要論文

1. Nishina N, Sato S, Masui K, Gono T, Kuwana M. Seasonal and residential clustering at disease onset of anti-MDA5-associated interstitial lung disease.RMD Open. 2020 Jun;6(2): e001202. doi: 10.1136/rmdopen-2020-001202. PMID: 32506053
2. Gono T, Masui K, Nishina N, Kawaguchi Y, Kawakami A, Ikeda K, Kirino Y, Sugiyama Y, Tanino Y, Nunokawa T, Kaneko Y, Sato S, Asakawa K, Ukichi T, Kaieda S, Naniwa T, Okano Y, Kuwana M; A Multicenter Retrospective Cohort of Japanese Patients with Myositis-associated ILD (JAMI) investigators. Risk prediction modeling based on a combination of initial serum biomarkers in myositis-associated interstitial lung disease. Arthritis Rheumatol. 2020 Oct 29. doi: 10.1002/art.41566. Online ahead of print. PMID: 33118321
3. Kaneko Y, Nunokawa T, Taniguchi Y, Yamaguchi Y, Gono T, Masui K, Kawakami A, Kawaguchi Y, Sato S, Kuwana M; JAMI investigators. Rheumatology (Oxford). Clinical characteristics of cancer-associated myositis complicated by interstitial lung disease: a large-scale multicentre cohort study. 2020 Jan 1;59(1):112-119. doi: 10.1093/rheumatology/kez238. PMID: 31382295
4. Sato S, Masui K, Nishina N, Kawaguchi Y, Kawakami A, Tamura M, Ikeda K, Nunokawa T, Tanino Y, Asakawa K, Kaneko Y, Gono T, Ukichi T, Kaieda S, Naniwa T, Kuwana M; JAMI investigators. Initial predictors of poor survival in myositis-associated interstitial lung disease: a multicentre cohort of 497 patients. Rheumatology (Oxford). 2018 Jul 1;57(7):1212-1221. doi: 10.1093/rheumatology /key060.PMID: 29596687
5. Sato S, Murakami A, Kuwajima A, Takehara K, Mimori T, Kawakami A, Mishima M, Suda T, Seishima M, Fujimoto M, Kuwana M. Clinical Utility of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detecting Anti-Melanoma Differentiation-Associated Gene 5 Autoantibodies. PLoS One. 2016 Apr 26;11(4):e0154285. doi: 10.1371/journal.pone.0154285. eCollection 2016.PMID: 27115353

Copyright (C) 2021 東海大学大学院医学研究科. All Rights Reserved.