

主論文の要旨

**Gene expression profile of inflammatory myopathy  
with malignancy is similar to that of  
dermatomyositis rather than polymyositis**

〔 悪性腫瘍を伴う炎症性筋疾患の遺伝子発現プロファイルは  
多発筋炎より皮膚筋炎に類似している 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻  
脳神経病態制御学講座 神経内科学分野

(指導：勝野 雅央 教授)

野田 智子

## <緒言>

炎症性筋疾患は大きく多発筋炎と皮膚筋炎に分類され、多発筋炎には筋組織を標的とする T リンパ球等の細胞性免疫の関与が推定される一方、皮膚筋炎には補体やケモカイン等の液性免疫の関与が推定されている。これら炎症性筋疾患と悪性腫瘍の関連についてはこれまでも議論されており、悪性腫瘍関連筋炎 (cancer associated myopathy :CAM) という概念も提唱されている。CAM の病理所見に関し定説はなく病態も不明な点が多い。我々は多発筋炎、皮膚筋炎、CAM について、遺伝子発現、免疫組織学的解析を行い、CAM の特徴を明らかにした。

## <対象および方法>

名古屋大学倫理委員会で承認を得て、後方的に研究を行った。当院で筋生検を行い、臨床経過・病理像から炎症性筋疾患と診断した症例を、悪性腫瘍の合併のない多発筋炎 : PM、悪性腫瘍の合併のない皮膚筋炎 : DM、悪性腫瘍を合併した炎症性筋疾患 : CAM の 3 群に分類した。すべての炎症性筋疾患患者は Bohan and Peter の definite もしくは probable の基準を満たし、PM と DM は、生検の前後 3 年以上悪性腫瘍の合併、新規発症が指摘されていない症例とした。CAM は筋疾患の発症と同時期に悪性腫瘍と診断されている症例とし、いずれの炎症性筋疾患患者も生検前にいずれの治療も受けていない例を選択した。コントロールは何らかの筋疾患が疑われ生検を行ったが、クレアチニンキナーゼ値が正常かつ筋組織の病理学的変化がないものとした。

まず PM3 例、DM3 例、CAM3 例、コントロール 5 例 (Table.1) でマイクロアレイと qRT-PCR の手法を用いて、遺伝子発現解析を行った。マイクロアレイでは、凍結筋組織から mRNA を抽出し、アジレント社のプローブアレイを使用して発現量を解析した。解析アプリケーション Gene Spring GX を用い全症例でのクラスタリング解析、コントロールを基準とした各群間の fold change 解析、各群に特徴的な遺伝子における gene ontology 解析を行った。qRT-PCR はマイクロアレイで変動が見られた遺伝子のうち、病態候補遺伝子 ; 炎症関連因子を中心に、HLA-ABC、HLA-DR、HLA-DQ、CD8、ICAM-1、VCAM-1、MX-1、AQP4 を抽出して解析を行った。

次に PM14 例、DM13 例、CAM25 例、コントロール 11 例で免疫組織染色を行い、マイクロアレイ、q RT-PCR 結果の検証を行った。免疫組織染色については、発現亢進項目については 0 を陰性、+4 を強陽性、発現低下項目については 0 を正常、-4 を最も発現低下が強い症例とし、半定量的に解析した。

## <結果>

14 例で行ったクラスタリング解析では、まずコントロール群と筋疾患群に大きく分けられ、筋疾患群はさらに PM 群と DM/CAM 混在群に分類された (Figure1)。このことから PM 群は特異的な遺伝子プロファイルを形成すること、クラスタリング解析による DM と CAM の区別は不可能であることが分かる。

次にコントロールとの比で fold change 2 以上の遺伝子を抽出した。発現亢進を示

した遺伝子数は PM で多く、特異的なものも多く見られた。DM、CAM は共通項が多く、特異的な上昇を示すものは少ないという類似の傾向が見られた(Figure2-A)。発現低下を示した遺伝子に関しても PM 群で最も多く見られた(Figure2-B)。

3 群に共通して発現変動を示した遺伝子群の中で、発現亢進が見られた 1609 遺伝子に関しては免疫システム、サイトカインなどの炎症を反映する病態が、また発現低下を示した 392 遺伝子からは、筋組織の障害や恒常性異常を反映する病態が抽出された(Table2-A)。PM で特異的に変動が見られた遺伝子群は、発現亢進の 1929 遺伝子から免疫応答、白血球活性、細胞接着等の細胞性免疫を反映する病態が、また発現低下の 951 遺伝子からは筋組織の障害や恒常性異常を反映する遺伝子が抽出された(Table2-B)。一方 DM、CAM においては、発現亢進、発現低下いずれにおいても有意な免疫システム、サイトカインなど炎症性の要素は共通していたが、それ以外には特徴的な病態は抽出されなかった(Table.2-C、D)。これらの結果は DM と CAM の病態が類似している可能性を示唆している。

Fold change 2 以上の発現変動を示した遺伝子のうち、炎症性の病態関連因子と考えられた 8 つの遺伝子を抽出し検討すると、以下の傾向が見られた。HLA-ABC は 3 群で同程度に発現、HLA-DR、HLA-DQ、CD8、ICAM-1、VCAM-1 は PM で、MX-1 は DM および CAM で強く発現が見られた。一方 AQP4 は PM で強く低下がみられた(Table3)。これらの 8 つの遺伝子について、qRT-PCR、免疫組織染色で検討したところ、マイクロアレイと同様の結果が得られた (Figure3、4)。CAM 群 25 例では、肺癌、胃癌、乳癌など様々な癌のタイプにかかわらず、検討した遺伝子の発現は類似していた。

### <考察>

マイクロアレイ、リアルタイム qRT-PCR、免疫組織染色から、同様の結果が得られ、1) DM と CAM は類似している、2) PM は DM、CAM とは異なっている、3) 癌のタイプに関わらず CAM の遺伝子発現は類似している、という 3 つの知見を得た。炎症性筋疾患におけるマイクロアレイの手法を用いた解析の報告は多い。サイトカインや MHC class 1 や 2、細胞接着因子、細胞骨格をコードする遺伝子発現が DM 患者より PM 患者で強く発現している。一方、インターフェロン  $\alpha/\beta$  によって誘導される ISG-15 や MX-1 などの遺伝子は PM より DM でより強く発現している。我々は解析の対象に CAM を加えることで、DM と CAM が PM とは異なっていることを見出した。AQP4 は健常な筋細胞膜に発現しているが、炎症性筋疾患では、とりわけ PM において強く減少しており、再生線維のみならず非壊死性線維でも発現が減少していた。このことは炎症性筋疾患において AQP4 の発現減少が骨格筋線維における機能的な欠陥を引き起こしているとし唆している。

以上のことから、PM における炎症は、主に細胞性免疫によって引き起こされ、炎症の場が筋線維そのものであると推測される。一方 DM と CAM は非特異的な炎症マーカーが共通しており筋線維自体に強い炎症は見られず、PM とは明らかに異なっ

おり、しかも DM、CAM はその発現パターンが類似していた。液性免疫を介した類似した病態が考えられた。CAM では腫瘍が遠隔的に筋の炎症を引き起こし、DM の病態が類似した特徴を共有していることが示唆される。

#### <結語>

PM に特徴的な高度の炎症反応が確認され、細胞免疫主体の自己免疫機序の関与が示された。DM と CAM のプロファイルはいずれの解析でも類似しており、液性免疫の関与が推定された。我々の研究が、CAM の病態解明と炎症性筋疾患患者における癌のスクリーニングの臨床的重要性を理解する手掛かりになるかもしれない。