

論文の内容の要旨

論文題目 免疫介在性壊死性ミオパチーと非特異的筋炎の臨床像と病理学的特徴の検討

氏名 鶴沼 敦

【緒言】

炎症性筋疾患（筋炎）は、骨格筋組織を主な炎症の場とし、筋組織破壊を特徴とする、様々な病態機序を背景に持つ疾患の総称である。臨床像、血清中の自己抗体、筋病理像から特徴付けられる。病理学的には筋炎は皮膚筋炎、多発筋炎、封入体筋炎という特異的な病理像を有する群をまず分類し、そして免疫介在性壊死性ミオパチー（immune-mediated necrotizing myopathy：IMNM）および病理学的な特徴に乏しい非特異的筋炎（non-specific myositis）に分類する。IMNMは「壊死・再生線維の多発に比して炎症所見に乏しい」という特徴的な病理像で特徴づけられる一群であるが、その壊死・再生線維や炎症所見の程度は定まっておらず、施設毎に基準が異なっている。また、個の病理像は特異的な所見ではないため、NSMとの異同は不明瞭であり、その点でIMNMの病理診断は困難である。

IMNMと関連する抗体として抗SRP（signal recognition particle）抗体と抗HMGCR（3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase）抗体が知られており、これらが陽性であればIMNMとなることが多いと言われる。これらの抗体が陽性なIMNMをseropositive IMNMと、両抗体が陰性なIMNMはseronegative IMNMと呼ばれている（この場合、seronegativeとは、抗SRP抗体と抗HMGCR抗体がどちらも陰性という意味で用いられており、その他の筋炎自己抗体の有無は問われていない）。Seronegative IMNMの診断には、筋炎自己抗体による分類ができないため、病理学的診断が必要とされる。そのため、seronegative IMNMを検討するためには、まずはIMNMの病理基準を明確にする必要がある。

IMNMの病態について、近年、シャペロン介在性オートファジーとの関連が指摘されるようになった。不要となったタンパク質はp62で標識され、隔離膜を構成するLC3とも結合し、リソソームで分解される。先行報告では病理所見や抗体による分類がなく、特にseronegative IMNMの病態にもオートファジーが関与しているかは不明であった。そこで、seronegative IMNMにおいてオートファジーの関与を明らかにすることを試みたが、そのためにはまずはIMNMの診断基準を定める必要があった。

【第一章】IMNMにおける壊死・再生線維および炎症の程度と筋炎自己抗体の関連の検討

近年、IMNMではオートファジーが病態に関与していることが報告されたが、先行報告では

病理基準や抗体毎の記載がなく、特に seronegative IMNM における検討は不十分であった。

Seronegative IMNM におけるオートファジーの関与を明らかにするためには IMNM の病理基準を明らかにする必要があった。そこでこの章では IMNM 診断に妥当な病理基準を策定し、seronegative IMNM の臨床・病理学的特徴を明らかにすることを目的とした。H&E 染色において壊死・再生変化と炎症細胞浸潤の程度を、それぞれ陰性・軽度・中等度・高度に半定量的に分類した。IMNM の診断基準は A と B の 2 種類を作成し、壊死・再生変化はどちらも中等度以上とし、炎症所見については軽度以下（基準 A）と中等度以下（基準 B）とした。

Seropositive myopathy は 81% で中等度以上の壊死・再生像を認めた。IMNM と判断される割合は、基準 A で 69% (72/104 例)、基準 B で 77% (80 例) であった。

Seronegative myopathy が IMNM として判断される割合は、基準 A で 14% (33/231 例)、基準 B で 25% (58 例) であった。53% (123 例) は壊死・再生像も炎症所見も軽度以下であった。

Seropositive myopathy は壊死・再生が中等度以上でかつ炎症が軽度以下の症例が 69% と多くを占めた。Seronegative myopathy では壊死・再生も炎症も軽度以下の症例が 53% と多く、IMNM の特徴に合致する例は全体の一部 (14%) に過ぎないことがわかった。Seronegative myopathy の病理変化の全体像は今回の検討で初めて明らかになった。Seropositive myopathy を多く含み、非 SRP, 非 HMGCR 症例の壊死・再生の軽症例を含まない基準として、「中等度以上の壊死・再生像」は妥当であった。基準 A を B に変更したときの IMNM 該当例の増加は seronegative myopathy で大きかった。炎症基準を変えた基準 A と基準 B は、IMNM 症例のスクリーニングには基準 B, IMNM の核となる症例の抽出には基準 A が適切であると考えた。以下は、より多数例の検討が可能な基準 B で検討を行った。

第一章で IMNM の診断基準を策定することで、seronegative IMNM に関連する抗体として AMA, ARS, RNP, Ku, SS-A を明らかにした。ARS, AMA, RNP, Ku 陽性筋炎の中での IMNM 頻度は、抗 SRP/HMGCR 抗体陽性筋炎のそれと比較し有意に低かった。さらに、これら 4 抗体とも、IMNM 群と NSM 群には臨床像に有意な差はなく、seronegative IMNM は、各抗体の臨床病理像のスペクトラムのあくまで一部分を見ているものと考えた。Seronegative IMNM 病理像を抽出することで、特定の臨床的な意義を示す証拠は得られなかった。

【第二章】IMNM と NSM の筋線維における p62 染色性の検討

近年 IMNM でオートファジーが病態に関与していることが示唆されたが、NSM や seronegative IMNM における検討は十分ではない。なお、オートファジーは活性亢進および活性低下のどちらでも p62 陽性顆粒は蓄積するため、活性の程度を病理学的に評価するためには

LC3 の染色性と比較することが必要である。第二章では、まず IMNM 筋組織における p62 染色性の特異性を、IMNM および NSM の連続症例で明らかにする。続けて本コホートの p62 染色性がオートファジー活性低下に合致する所見が明らかにすることを目的とした。

p62 の免疫染色用の凍結筋ブロックが利用可能であった 329 例で検討した。p62 染色性の評価については、非壊死筋線維の細胞質に顆粒状染色性が 3 本以上の筋線維に認められる場合を「顆粒状 p62 染色性陽性」とした。IMNM の診断には基準 B を用いた。また一部の症例においては LC3 についても、p62 との連続切片で評価を行った。1 本以上の非壊死筋線維の細胞質に p62 と LC3 両方の染色性が認められるか評価した。

p62 染色性は、seropositive myopathy では 89%, seronegative IMNM では 6.6%であり、seropositive myopathy で有意に高頻度であった。Seropositive myopathy ではオートファジーが強く関与していることが示された。自己抗体ごとの p62 染色性は、SRP(n=62) 85%、HMGCR(n=39) 95%に対し、IMNM に関連する抗体では ARS(n=67) 4.5%, AMA(n=40) 2.4%, Ku(n=16) 6.3%, SSA(n=7) 0%であり、SRP, HMGCR に比して有意に低かった。病理所見が IMNM であっても ARS, AMA, Ku, SS-A では p62 染色性は低頻度であった。RNP (n=19)の p62 染色性は 32%であり、SRP, HMGCR 群よりは有意に低頻度であったが、ARS, AMA, Ku, SS-A による IMNM より有意に高頻度であった。各抗体で、IMNM/NSM の病理診断による p62 染色性頻度の差異を検討したが、いずれの抗体群でも差はなかった。

Seropositive myopathy で p62 染色性を有する群は、染色性を有しない群よりも有意に血清平均 CK 値が高値であった。p62 陽性例は血清 CK が高いことから、因果関係は不明ながらも、筋崩壊とオートファジーに関連があることが示唆された。Seropositive myopathy では、壊死・再生変化が軽度でも p62 染色性を認めた。このことは、seropositive myopathy の病理変化の初期からオートファジーが関与していることが示唆された。ただし、今回の検討では壊死・再生の程度を半定量的に評価しており、その限界も想定される。

なお、p62 と LC3 に対する染色性検討を seropositive myopathy 21 例を含めた 31 例で検討したが、p62 と LC3 の染色性は抽出全例で一致していた。この結果は、オートファゴソームが非壊死筋線維内に蓄積していることの傍証と言えるものであり、オートファジー活性の低下に対し支持的な結果と考えた。

p62 染色性は IMNM という形態学的変化ではなく、血清学的特徴である抗 SRP/HMGC R/RNP 抗体と関連していることを示した。また、抗 RNP 抗体陽性筋炎の病態にオートファジー系が関与している可能性を初めて明らかにした。抗 RNP 抗体以外の seronegative IMNM の p62 染色性は低頻度であり、SRP/HMGCR/RNP とは筋壊死の背景病態が異なると考えた。

第二章では、IMNM と NSM の p62 染色性頻度に明らかな差がないことを示した。さらに、seronegative myopathy の p62 染色性が seropositive myopathy と比べ有意に低いことを示した。このことは、seronegative myopathy を病理学的な p62 染色性という点でもつまり分類する意義に乏しいことを新たに示した。そして、seronegative myopathy と seropositive myopathy という筋炎自己抗体を軸に大別できることを臨床・病理学的に示した。これは IMNM を形態学的な特徴で分類することよりも、抗体による分類が重要であることを示すものであると考える。

【第三章】 Seropositive myopathy の診断に重要な臨床病理学的因子の検討

抗 SRP 抗体や抗 HMGCR 抗体陽性筋炎は治療抵抗性であり、早期の診断および強力な治療が望ましい。しかし、すべての筋炎症例で抗 SRP 抗体や抗 HMGCR 抗体を測定することは現実的ではない。そのため、筋病理像から seropositive myopathy の診断に寄与する臨床・病理学的因子の探索を行った。病理学的に IMNM または NSM に該当する筋炎を対象とし、seropositive myopathy を疾患陽性、seronegative myopathy を疾患陰性とした。後方視的に seropositive myopathy に対して、臨床・病理学的指標の診断に対するオッズ比を算出した。

臨床的因子については、血清 CK 値は 3000 IU/L をカットオフ値としたときに オッズ比が 18.48 (9.92-36.03) と最も高かった。病理学的因子については、第 1 章で定めた基準 A・B を満たした場合でも、いずれも血清 CK 値よりもオッズ比が低く算出された。p62 染色性はいずれも高いオッズ比が算出され、非壊死筋線維のいずれか 1 本以上で p62 陽性であればそのオッズ比は 92.78 (40.22-241.85) と高かった。p62 はその他の臨床・病理学的な特徴のいずれよりも診断精度が優れていることが明らかになった。特に seropositive myopathy において萎縮筋線維で p62 染色性が認められた点が他の抗体群の所見とは異なった。

(3580 字)