

基础研究论著

## 病毒感染通过转录与翻译后调控激活MDA5通路在抗MDA5抗体阳性 皮炎合并间质性肺病中的作用

刘姝孜<sup>1</sup>, 赵征<sup>2</sup>, 段智梅<sup>1</sup>, 王凯飞<sup>1</sup>, 胡晔<sup>1</sup>, 谭尧<sup>1</sup>, 刘铮<sup>1</sup>, 谢菲<sup>1</sup><sup>1</sup>解放军总医院第一医学中心呼吸与危重症医学科, 北京 100853; <sup>2</sup>解放军总医院第一医学中心风湿免疫科, 北京 100853

**摘要:**背景 抗MDA5(melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)抗体阳性皮炎(dermatomyositis, DM)容易合并间质性肺病(interstitial lung disease, ILD), 尤其是快速进展型ILD(rapidly progressive ILD, RPILD), 预后极差。目前MDA5通路异常活化的具体驱动机制尚未明确。目的 探讨病毒感染是否驱动MDA5抗体阳性DM合并ILD, 并阐明其是否通过转录与翻译后机制介导MDA5通路的过度活化。方法 选择2023年12月至2025年1月解放军总医院第一医学中心确诊的抗MDA5抗体阳性DM患者和抗合成酶综合征(anti-synthetase syndrome, ASS)患者, 比较分析两组患者的临床特征和免疫学指标。收集抗MDA5抗体阳性DM合并ILD患者的肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF), 进行宏基因组测序以分析病原体分布。在体外实验中, 采用人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)、单纯疱疹病毒1型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)、甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)和人冠状病毒OC43(human coronavirus OC43, HCoV-OC43)分别感染THP-1细胞构建感染模型, 运用逆转录实时定量PCR和蛋白质印迹法检测MDA5及其下游信号分子表达水平, 并通过放线菌酮追踪实验评估病毒感染对MDA5蛋白稳定性的影响。结果 本研究共纳入20例抗MDA5抗体阳性DM患者和10例ASS患者; 与ASS组相比, 抗MDA5抗体阳性DM组患者皮肤溃疡发生率(45.0% vs 0,  $P < 0.05$ )和RPILD发生率(55.0% vs 0,  $P < 0.01$ )均较高, 外周血CD4<sup>+</sup> T细胞( $345.9 \pm 228.9 \mu\text{L}$  vs  $757.6 \pm 526.7 \mu\text{L}$ )和CD8<sup>+</sup> T细胞计数( $154.2 \pm 119.1 \mu\text{L}$  vs  $391.1 \pm 247.3 \mu\text{L}$ )较低, 血清IL-6水平( $14.2 \pm 10.8 \text{ pg/mL}$  vs  $4.3 \pm 4.4 \text{ pg/mL}$ )较高, 差异均有统计学意义( $P$ 均 $< 0.05$ )。15例抗MDA5抗体阳性DM患者的BALF样本宏基因组测序显示, 66.7%(10/15)的抗MDA5抗体阳性DM合并ILD患者存在病毒感染, 其中HCMV与HSV-1的检出率分别为46.7%(7/15)和26.7%(4/15)。体外实验表明, HCMV和HSV-1感染可促进MDA5和下游信号分子的表达; IAV和HCoV-OC43感染可在转录水平变化不显著的情况下, 通过延长MDA5蛋白半衰期增强其稳定性。结论 病毒感染或能通过诱导MDA5转录激活与增强蛋白稳定性, 持续活化其信号通路, 进而提示该病毒可能通过调控MDA5通路, 参与抗MDA5抗体阳性DM合并ILD的发病。

**关键词:**皮炎; 抗MDA5抗体; 间质性肺病; 抗合成酶综合征; 病毒感染; 信号通路

中图分类号: R563.9

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2025)11-1051-12

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.25101604

引用本文: 刘姝孜, 赵征, 段智梅, 等. 病毒感染通过转录与翻译后调控激活MDA5通路在抗MDA5抗体阳性皮炎合并间质性肺病中的作用 [J]. 解放军医学院学报, 2025, 46 (11): 1051-1062.

### Role of viral infection in regulating MDA5 through transcriptional and post-translational mechanisms in anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis complicated with interstitial lung disease

LIU Shuzi<sup>1</sup>, ZHAO Zheng<sup>2</sup>, DUAN Zhimei<sup>1</sup>, WANG Kaifei<sup>1</sup>, HU Ye<sup>1</sup>, TAN Yao<sup>1</sup>, LIU Zheng<sup>1</sup>, XIE Fei<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China;<sup>2</sup>Department of Rheumatology and Immunology, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: XIE Fei. Email: xiefei0522@163.com

**Abstract: Background** Anti-MDA5 (Melanoma differentiation-associated gene 5) antibody-positive dermatomyositis (DM) is frequently complicated by interstitial lung disease (ILD), particularly the rapidly progressive ILD (RPILD), which confers a poor prognosis. The precise mechanisms driving the aberrant activation of the MDA5 pathway in this condition remain unclear.

收稿日期: 2025-10-16

基金项目: 省部级课题

第一作者: 刘姝孜, 在读硕士。Email: szldoctor@163.com

通信作者: 谢菲, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师。Email: xiefei0522@163.com

**Objective** To investigate whether viral infection is a driving factor in anti-MDA5 antibody-positive DM with ILD, and elucidate its role in mediating MDA5 pathway hyperactivation through transcriptional and post-translational mechanisms. **Methods** Anti-MDA5 antibody-positive DM patients and anti-synthetase syndrome (ASS) patients diagnosed at the First Medical Center of PLA General Hospital from December 2023 to January 2025 were enrolled. Comparative analysis of clinical characteristics and immunological parameters was performed between the two groups. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was collected from 15 anti-MDA5 antibody-positive DM-ILD patients for metagenomic next-generation sequencing (mNGS) to analyze the pathogen landscape. For in vitro experiments, THP-1 cells were infected with human cytomegalovirus (HCMV), herpes simplex virus type 1 (HSV-1), influenza A virus (IAV), or human coronavirus OC43 (HCoV-OC43) to establish infection models. The expression levels of MDA5 and its downstream signaling molecules were detected using reverse transcription quantitative real-time PCR (RT-qPCR) and Western blotting. The effect of viral infection on MDA5 protein stability was assessed via a cycloheximide (CHX) chase assay. **Results** This study enrolled a total of 20 anti-MDA5 antibody-positive DM patients and 10 ASS patients. Compared with the ASS group, the anti-MDA5 antibody-positive DM group had a significantly higher incidence of skin ulcers (45.0% vs 0%,  $P < 0.05$ ) and RPILD (55.0% vs 0%,  $P < 0.01$ ). Additionally, peripheral blood CD4<sup>+</sup> T cell counts (345.9±228.9  $\mu$ L vs 757.6±526.7  $\mu$ L) and CD8<sup>+</sup> T cell counts (154.2±119.1  $\mu$ L vs 391.1±247.3  $\mu$ L) were significantly lower, while serum IL-6 levels (14.2±10.8 pg/mL vs 4.3±4.4 pg/mL) were significantly higher (all  $P < 0.05$ ). Metagenomic sequencing of BALF from 15 anti-MDA5 antibody-positive DM-ILD patients revealed detectable viral infections in 66.7% (10/15), with HCMV and HSV-1 detection rates of 46.7% (7/15) and 26.7% (4/15), respectively. In vitro experiments demonstrated that HCMV and HSV-1 infection promoted the expression of MDA5 and its downstream signaling molecules. In contrast, IAV and HCoV-OC43 infection enhanced MDA5 protein stability by prolonging its half-life without significantly altering its mRNA levels. **Conclusion** Viral infection may induce MDA5 transcriptional activation and enhance its protein stability, thereby persistently activating its signaling pathway. This suggests that the virus may participate in the pathogenesis of anti-MDA5 antibody-positive DM associated with ILD by regulating the MDA5 pathway.

**Keywords:** dermatomyositis; anti-MDA5 antibody; interstitial lung disease; anti-synthetase syndrome; viral infection; signaling pathway

**Cited as:** Liu SHZ, Zhao ZH, Duan ZHM, et al. Role of viral infection in regulating MDA5 through transcriptional and post-translational mechanisms in anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis complicated with interstitial lung disease [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(11): 1051-1062.

抗 MDA5(melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)抗体阳性皮炎(dermatomyositis, DM)是特发性炎症性肌病(idiopathic inflammatory myopathy, IIM)中一种具有独特临床表型且预后不良的亚型<sup>[1]</sup>。该病最凶险的并发症为快速进展型间质性肺病(rapidly progressive interstitial lung disease, RPILD),常导致患者在短期内发生呼吸衰竭甚至死亡,对临床诊治是重大挑战<sup>[1-2]</sup>。目前,该病的常规治疗方案是糖皮质激素联合免疫抑制剂(环磷酰胺、他克莫司等)<sup>[1]</sup>,有研究探索了Janus激酶抑制剂(janus kinase inhibitors, JAKi)、利妥昔单抗等新型的靶向治疗方案<sup>[3-4]</sup>,以及早期进行规范化的抗纤维化治疗<sup>[5]</sup>。然而,即便采取积极联合干预,其总体预后仍不理想,驱动此类危重病程的核心免疫病理机制尚未完全明确,极大限制了早期有效干预及靶向治疗策略的制定。

抗MDA5抗体阳性DM患者具备独特的免疫学特征,主要包括I型/III型干扰素信号通路的激活<sup>[6-7]</sup>、外周血淋巴细胞(尤其CD8<sup>+</sup>T细胞)数量的下降<sup>[8-9]</sup>以及白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)<sup>[10]</sup>、白细胞介素8(interleukin 8, IL-8)<sup>[11]</sup>、白细胞介素15(interleukin 15, IL-15)<sup>[12]</sup>等炎症因子水平升高所反映的强烈系统性炎症状态。MDA5作为细胞内

识别病毒RNA的关键模式识别受体<sup>[13]</sup>,其相应自身抗体——抗MDA5抗体,已被确立为本病的血清学标志,其滴度水平和疾病的严重性相关<sup>[14-15]</sup>。尽管该抗体在疾病诊断中具有高度特异性,其在致病过程中的具体作用机制尚未明确。目前普遍认为,MDA5信号通路的异常及持续过度激活,是引发“干扰素风暴”及后续炎症损伤的核心环节<sup>[16-17]</sup>。因此,探索何种因素触发或维持MDA5通路的异常活化,成为该领域的关键问题。

大多数研究者认为病毒感染可能是触发该病的重要环境因素<sup>[18-19]</sup>。尽管有零星临床关联报道<sup>[20-22]</sup>,但病毒感染与抗MDA5抗体阳性DM合并ILD之间的因果关系及分子机制仍存在大量未知。病毒感染究竟仅为伴随现象,还是通过直接调控MDA5通路主动参与致病过程?其调控机制是否仅限于转录水平激活,抑或涉及尚未被揭示的转录后修饰过程?为更清晰揭示抗MDA5抗体阳性DM的独特性,本研究选择抗合成酶综合征(anti-synthetase syndrome, ASS)作为对照组,ASS同为IIM常见亚型且常伴ILD,但其免疫机制与MDA5通路不同,有助于凸显本病的特异性<sup>[23]</sup>。为系统解析上述问题,本研究从分析患者的临床和免疫学特征出发,结合肺泡灌洗液样本宏基因组下一

代测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 与体外细胞感染模型, 旨在探讨病毒感染是否为抗 MDA5 抗体阳性 DM 合并 ILD 的驱动因素, 并阐明其是否通过转录与翻译后机制介导 MDA5 通路的过度活化。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天, 产品号 P0010), 放线菌酮(MedChemExpress, 产品号 HY-12320), DMEM 培养基(Gibco, 产品号 C11995500 BT), RPMI 1640 培养基(Gibco, 产品号 C1187550 0BT), 胎牛血清(BI, 产品号 04-001-1C), 青霉素/链霉素(Gibco, 产品号 21063029), RNA 提取试剂盒(Magen, 产品号 R4011), 逆转录试剂盒(Takara Biomedical Technology, 产品号 RR047A), SYBR Green 实时荧光定量 PCR 混合液(Thermo Fisher, 产品号 01118369), 蛋白 Marker(Thermo Fisher, 产品号 26616), 聚偏二氟乙烯膜(Millipore, 产品号 0000233732), 抗 MDA5 抗体 (CST, 产品号 D74E4), 抗 p-TBK1 抗体(CST, D52C2); 抗 TBK1 抗体(CST, 产品货号 5483T), 抗 IRF3 抗体(CST, 产品货号 11904S), 抗 p-IRF3 抗体(Abcam, 产品货号 ab76493), 抗 GAPDH 抗体(华兴博创, HX1832)。

### 1.2 研究对象

本研究为一项单中心、回顾性、观察性研究, 连续入组了 2023 年 12 月至 2025 年 1 月确诊的抗 MDA5 抗体阳性 DM 和 ASS 患者。

抗 MDA5 抗体阳性 DM 诊断标准: (1) 符合 2017 年欧洲抗风湿病联盟/美国风湿病学会 (European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology, EULAR/ACR) 发布的成人 IIM 分类标准<sup>[24]</sup>, 并被判定为“很可能”或“确诊”的 DM; (2) 血清学检测抗 MDA5 抗体阳性。

ASS 患者的诊断基于以下综合标准: (1) 血清学检测到抗合成酶抗体(如抗 Jo-1、PL-7、PL-12 等)阳性; (2) 具备至少一项 ASS 的典型临床特征(如间质性肺病、关节炎、技工手、发热等); (3) 同时, 所有 ASS 患者均符合 2017 年 EULAR/ACR 成人 IIM 分类标准<sup>[24]</sup>, 并被归类为“很可能”或“确诊”的 DM。旨在确保对照组与实验组(抗 MDA5 抗体阳性 DM)一样, 同属于定义明确的 IIM 疾病谱系, 从而进行有效的亚型间比较。

纳入标准: (1) 年龄  $\geq 18$  岁; (2) 符合上述抗 MDA5 抗体阳性 DM 或 ASS 诊断标准。排除标准: (1) 合并其他明确结缔组织病(如系统性红斑狼疮、系统性硬化症等); (2) 存在其他已知病因的 ILD(如职业环境、药物所致); (3) 合并其他严重器官功能衰竭。

所有入组患者均经高分辨率 CT(high-resolution computed tomography, HRCT) 评估肺部病变。本研究中, ILD 为广义诊断, 涵盖了从非特异性间质性肺炎(nonspecific interstitial pneumonia, NSIP) 到 RPILD 在内的影像学表现。所有患者的 ILD(及 RPILD) 诊断, 均由至少两名高级职称的呼吸与危重症医学科及放射科专家独立审阅 HRCT 影像后共同确认。ILD 诊断依据 2013 年美国胸科学会/欧洲呼吸病学会 (American Thoracic Society/European Respiratory Society, ATS/ERS) 相关标准<sup>[25]</sup>。RPILD 诊断符合 Kondoh 等<sup>[26]</sup>提出的临床标准: 呼吸困难或在出现呼吸系统症状后 3 个月内进展为呼吸衰竭。

本研究遵循《赫尔辛基宣言》伦理准则, 并获得解放军总医院医学伦理委员会批准(批准号: S2023-802-01); 所有入组患者均签署书面知情同意书。

### 1.3 支气管肺泡灌洗液样本宏基因组测序分析

支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 样本在患者确诊抗 MDA5 抗体阳性 DM 合并 ILD 并首次进入重症监护室(intensive care unit, ICU) 评估时采集。使用低载量核酸提取技术 (Cell-free mNGS 技术), 构建文库后通过 illumina 测序平台及 SE75bp 的测序策略进行测序, 下机数据经 Fastp 进行质控, 使用 KneadData 去除人源宿主序列, 与病原泛基因组数据库进行比对分析, 病毒阳性的判断标准基于置信度和特异性序列数。置信度代表病原体鉴定的可靠性, 其特征维度包含测序量、基因组大小、覆盖度、相对丰度、序列数、质控情况等。特异序列数是指唯一精确比对至单一微生物物种的序列数量, 在其他维度相同时, 特异性序列数越多, 代表该微生物在样本中的含量越高, 影响特异序列数的维度有测序量、基因组大小、数据库组成、序列同源性等。

### 1.4 细胞培养与传代

人单核细胞系 THP-1 采用含 10% 胎牛血清及 1% 青霉素-链霉素的 RPMI 1640 培养基培养; HEK293、HeLa、SLK、iSLK、iSLK-219、A549、

MRC-5、HUVEC、HFF、Vero、BHK-21及MDCK细胞系则采用含10%胎牛血清及1%青霉素-链霉素的DMEM培养基培养。所有细胞均置于37°C、5% CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱中培养。以上所有细胞系均由中国科学院生物物理研究所邓红雨实验室捐赠。

### 1.5 病毒扩增与纯化

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)使用HFF细胞进行扩增,单纯疱疹病毒1型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)使用Vero细胞扩增,甲型流感病毒(influenza a virus, IAV)使用MDCK细胞扩增,人冠状病毒OC43(human coronavirus OC43, HCoV-OC43)使用BHK-21细胞扩增。将各细胞以适宜密度接种于培养皿中,待细胞融合度达80%~90%时,以适宜感染复数(multiplicity of infection, MOI)接种相应病毒液。当80%~90%细胞出现典型细胞病变效应时收集病毒液,经4 000 r/min离心15 min去除细胞碎片,分装病毒上清液并保存于-80°C冰箱。

### 1.6 病毒滴度测定

采用空斑实验测定HCMV、HSV-1和IAV的病毒滴度,HCoV-OC43的病毒滴度采用50%组织细胞感染剂量法(50% tissue culture infectious dose, TCID<sub>50</sub>)进行测定。

### 1.7 病毒感染模型构建

将冻存病毒于37°C水浴复苏后,以特定的MOI感染细胞: HCMV MOI=0.02, HSV-1 MOI=1, IAV MOI=0.02, HCoV-OC43 MOI=1。感染时采用少量无血清培养基稀释病毒液,加入细胞中

于37°C孵育1~2 h完成吸附。移除病毒液,更换为新鲜完全培养基,继续培养至预定时间点收集细胞样本。

### 1.8 逆转录实时定量PCR检测MDA5及相关细胞因子mRNA表达水平

采用逆转录实时定量PCR(reverse transcription quantitative real-time PCR, RT-qPCR)检测MDA5及细胞因子的mRNA表达水平。使用RNA提取试剂盒提取细胞总RNA,操作步骤参照试剂盒说明书。采用逆转录试剂盒将RNA反转录为cDNA。以SYBR Green实时荧光定量PCR混合液为检测体系,使用基因特异性引物进行RT-qPCR分析。采用比较阈值循环数 $\Delta\Delta C_t$ 法,以 $\beta$ -肌动蛋白(actin beta, *ACTB*)作为内参基因,计算目的基因mRNA的相对表达水平。基因表达倍数=2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 。引物信息见表1。

### 1.9 蛋白质印迹法检测MDA5及相关信号蛋白表达

通过蛋白质印迹法(western blotting, WB)检测MDA5等蛋白的表达水平。收集细胞样本,利用裂解液进行蛋白提取,采用BCA法测定蛋白浓度,通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白样品,转移到聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。用5%脱脂奶粉封闭膜,与一抗4°C过夜孵育,含0.1%吐温20的磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline with tween 20, PBST)洗涤30 min,与相应二抗室温孵育2 h, PBST洗涤1 h。通过化学荧光法显色,使

表1 PCR引物序列

Tab. 1 PCR primer list

基因	正向(5' - 3')	反向(5' - 3')
<i>ACTB</i>	AAAGACCTGTACGCCAACAC	GTCATACTCTGCTTGCTGAT
<i>IFIH1</i>	GCTGAAGTAGGAGTCAAAGCCC	CCACTGTGGTAGCGATAAGCAG
<i>IFNA1</i>	GCAAGCCCAGAAGTATCTGC	ACTGGTTGCCATCAAACCTCC
<i>IFNB1</i>	ATGACCAACAAGTGTCTCTCTCC	GGAATCCAAGCAAGTTGTAGCTC
<i>IFNG</i>	TCGGTAACTGACTTGAATGTCCA	TCGCTTCCCTGTTTTAGCTGC
<i>IFNL1</i>	GACATGACTGGGGACTGCACGC	GACACACAGTCCCCACTGGC
<i>IL1B</i>	CAGTGAAATGATGGCTTATTAC	CTTTCAACACGCAGGACAGGT
<i>IL-6</i>	GGTACATCCTCGACGGCATCT	GTGCCTCTTGCTGCTTTCAC
<i>IL-8</i>	GAGAGTGATTGAGAGTGGACCAC	CACAACCCTCTGCACCCAGTTT
<i>IL-15</i>	GGA AACCCCTTGCCATAGC	GATGGAAATACTTCTCAAATGTGGT

*ACTB*: actin beta, 肌动蛋白; *IFIH1*: interferon induced with helicase C domain 1, 干扰素诱导解旋酶C域1; *IFNA1*: interferon alpha 1, 干扰素 $\alpha$ 1; *IFNB1*: interferon beta 1, 干扰素 $\beta$ 1; *IFNG*: interferon gamma, 干扰素 $\gamma$ ; *IFNL1*: interferon lambda 1, 干扰素 $\lambda$ 1; *IL1B*: interleukin 1 beta, 白细胞介素1 $\beta$ ; *IL-6*: interleukin 6, 白细胞介素6; *IL-8*: interleukin 8, 白细胞介素8; *IL-15*: interleukin 15, 白细胞介素15。

用Image J软件对蛋白条带进行灰度分析。

### 1.10 放线菌酮追踪实验检测MDA5蛋白稳定性

为评估病毒感染对MDA5蛋白稳定性的影响,采用放线菌酮(Cycloheximide, CHX)追踪实验。具体步骤:向培养基中加入CHX至终浓度50 μg/mL以抑制新生蛋白质合成。分别于CHX加入后0、2、4、6 h收集细胞样本,通过WB检测MDA5及内参蛋白GAPDH的表达水平。采用Image J软件分析蛋白条带灰度值,以0 h MDA5蛋白表达量为基准,计算各时间点MDA5蛋白的相对残留量,并绘制蛋白降解动力学曲线。

### 1.11 统计分析

采用SPSS 27.0及GraphPad Prism 9.5软件进行统计分析。计量资料行Shapiro-Wilk检验,符合正态分布的计量资料以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本 $t$ 检验;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)[ $M(IQR)$ ]表示,组间比较采用Mann-Whitney  $U$ 检验(两组比较)或Kruskal-Wallis  $H$ 检验(多组比较)。分类资料以例数(百分比)[ $n(\%)$ ]表示,组间比较采用卡方检验或Fisher精确检验。所有统计检验均为双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。体外实验均独立重复3次,结果呈现具有代表性的一次实验数据。

## 2 结果

### 2.1 抗MDA5抗体阳性DM患者的临床表现特征

本研究连续纳入2023年12月至2025年1月期间确诊的20例抗MDA5抗体阳性DM患者及10例ASS患者。两组患者在年龄( $54.7 \pm 16.4$ 岁 vs  $56.4 \pm 9.0$ 岁,  $P = 0.756$ )及性别构成(女性75.0% vs 90.0%,  $P = 0.633$ )等基线资料上差异无统计学意义(表2)。在皮肤黏膜表现方面,抗MDA5抗体阳性DM患者出现Gottron征、向日葵皮疹的比例分别为40.0%和50.0%,其中皮肤溃疡的发生率高于ASS患者(45.0% vs 0%,  $P = 0.013$ ),提示其具有独特的皮肤受累特征(表2)。

在肺部受累方面,尽管两组患者在入院时的基线氧合指数、氧合指数分级及机械通气比例上差异均无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ ),但抗MDA5抗体阳性DM患者的ILD,尤其是RPILD的发生率高于ASS组(55.0% vs 0%,  $P < 0.01$ )。这一发现提示,与ASS相比,抗MDA5抗体阳性DM患者肺损伤的严重性并非完全体现在就诊时的静态指标上,而更突出地表现为其快速进展的ILD的临床病程。

虽然两组患者死亡率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但是相较于ASS组,抗MDA5抗体阳性DM死亡人数较多(30.0% vs 10.0%),上述显著的临床异质性为后续深入探索其免疫学机制提供了重要的表型依据(表2)。

表2 抗MDA5抗体阳性DM和ASS患者的临床特征分析

Tab. 2 Analysis of clinical characteristics of anti-MDA5 antibody-positive DM versus anti-synthetase syndrome patients

指标	抗MDA5抗体阳性DM(n=20)	抗合成酶综合征(n=10)	P值
人口统计学			
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	54.7±16.4	56.4±9.0	0.756
女性/(例,%)	15(75.0%)	9(90.0%)	0.633
临床表现/(例,%)			
Gottron征	8(40.0%)	0(0%)	0.029
向日葵皮疹	10(50.0%)	1(10.0%)	0.049
皮肤溃疡	9(45.0%)	0(0%)	0.013
肌肉疼痛/肌无力	12(60.0%)	5(50.0%)	0.706
肺损伤指标			
氧合指数/(mmHg, $\bar{x} \pm s$ )	342.9±153.8	368.2±107.4	0.646
氧合指数分级/(例,%)			0.182
>300 mmHg	13(65.0%)	9(90.0%)	
200~300 mmHg	3(15.0%)	0(0%)	
<200 mmHg	4(20.0%)	1(10.0%)	
机械通气	4(20.0%)	1(10.0%)	0.640
肺部受累与疾病进程/(例,%)			
ILD	20(100.0%)	7(70.0%)	0.030
RPILD	11(55.0%)	0(0%)	0.004
死亡	6(30.0%)	1(10.0%)	0.372

DM: dermatomyositis, 皮肌炎;ILD: interstitial lung disease, 间质性肺病;RPILD: rapidly progressive ild, 快速进展型间质性肺病。

### 2.2 抗MDA5抗体阳性DM患者的免疫紊乱与炎症状态

比较15例抗MDA5抗体阳性DM和10例ASS患者的免疫及炎症特征,结果显示,抗MDA5抗体阳性DM患者外周血淋巴细胞总数降低( $880.8 \pm 516.9 \mu\text{L}$  vs  $1668.0 \pm 842.1 \mu\text{L}$ ,  $P < 0.01$ )。淋巴细胞亚群分析表明,CD3<sup>+</sup>T细胞的减少尤为突出( $507.9 \pm 314.7 \mu\text{L}$  vs  $1176.0 \pm 676.5 \mu\text{L}$ ,  $P < 0.01$ )。进一步对T细胞亚群进行细分,可见CD4<sup>+</sup>T细胞( $345.9 \pm 228.9 \mu\text{L}$  vs  $757.6 \pm 526.7 \mu\text{L}$ ,  $P < 0.01$ )与CD8<sup>+</sup>T细胞计数( $154.2 \pm 119.1 \mu\text{L}$  vs  $391.1 \pm 247.3 \mu\text{L}$ ,  $P < 0.01$ )均下降。上述结果提示,以T细胞,特别是CD4<sup>+</sup>T及CD8<sup>+</sup>T细胞减少为特征的免疫耗竭可能是抗MDA5抗体阳性DM的关键免疫学异常。同时,抗MDA5抗体阳性DM患者呈现更强的系统性

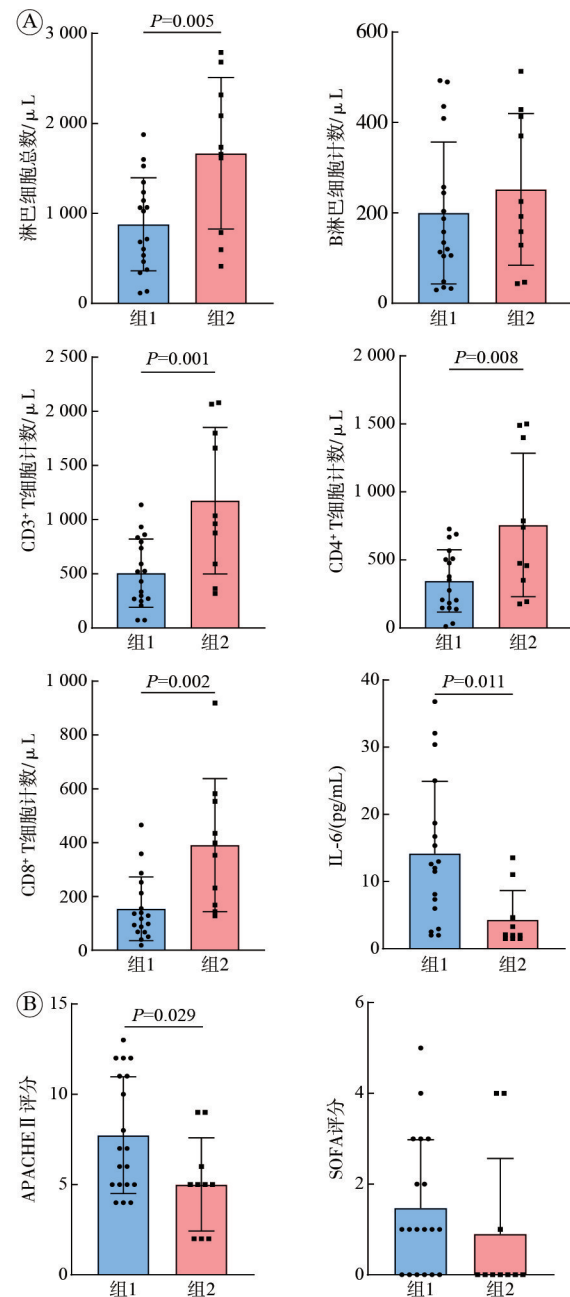
炎症状态,其血清IL-6水平升高( $14.2 \pm 10.8$  pg/mL vs  $4.3 \pm 4.4$  pg/mL,  $P < 0.05$ )。在疾病严重程度方面,抗MDA5抗体阳性DM组患者的急性生理与慢性健康评分II(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分较高( $7.7 \pm 3.2$  vs  $5.0 \pm 2.6$ ,  $P = 0.029$ ),与此类患者预后差,死亡风险高的临床特征相符;尽管两组间的序贯器官衰竭评估(sequential organ failure assessment, SOFA)评分差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但组1的评分中位数及离散程度均提示其患者的器官功能障碍基线水平可能高于组2[M(IQR):  $1.0(0 \sim 3.0)$  vs  $0(0 \sim 1.75)$ ]。见图1。

### 2.3 抗MDA5抗体阳性DM合并ILD患者的病毒病原体谱

本研究对15例抗MDA5抗体阳性DM合并ILD(包括RPILD)患者的BALF样本进行了宏基因组测序分析。所有患者在BALF采样前均已接受过糖皮质激素联合免疫抑制剂(如环磷酰胺、他克莫司等)的基础治疗。宏基因组测序结果显示,在全部15例患者中,10例(66.7%)检出一种或多种病毒感染,其余5例(33.3%)未检出病毒(图2A)。在病毒阳性患者中,HCMV与HSV-1为最主要的检出病毒,感染率分别为46.7%(7/15)与26.7%(4/15)(图2A)。此外,在部分患者中还检测到甲型流感病毒(1/15)及冠状病毒(2/15)(图2A)。值得注意的是,所有患者在接受BALF检测的同时,均进行了外周血EBV-DNA、CMV-DNA核酸检测以及鼻咽拭子甲型、乙型流感病毒和严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)核酸检测,结果均为阴性,这一发现提示疱疹病毒的检测信号主要局限在肺部。为进一步展示病毒分布的详细情况,绘制病毒相对丰度和共感染分布图(图2B)。结果显示,病毒感染模式呈现异质性,HCMV单独感染只有1例,HCMV可与多种疱疹病毒和RNA病毒共感染(图2B)。对于上述病毒检测阳性的患者,临床医师并未立即启用更昔洛韦或阿昔洛韦等特异性抗病毒治疗,这为观察病毒感染的自然进程与疾病发展的关系提供了机会。当患者存在肺部病毒感染时,大多数患者疾病进程快、预后差(图2B)。

### 2.4 HCMV与HSV-1激活MDA5通路并诱导下游炎症因子表达

为验证临床发现,本研究在体外构建了HCMV与HSV-1感染人单核巨噬细胞系THP-1的

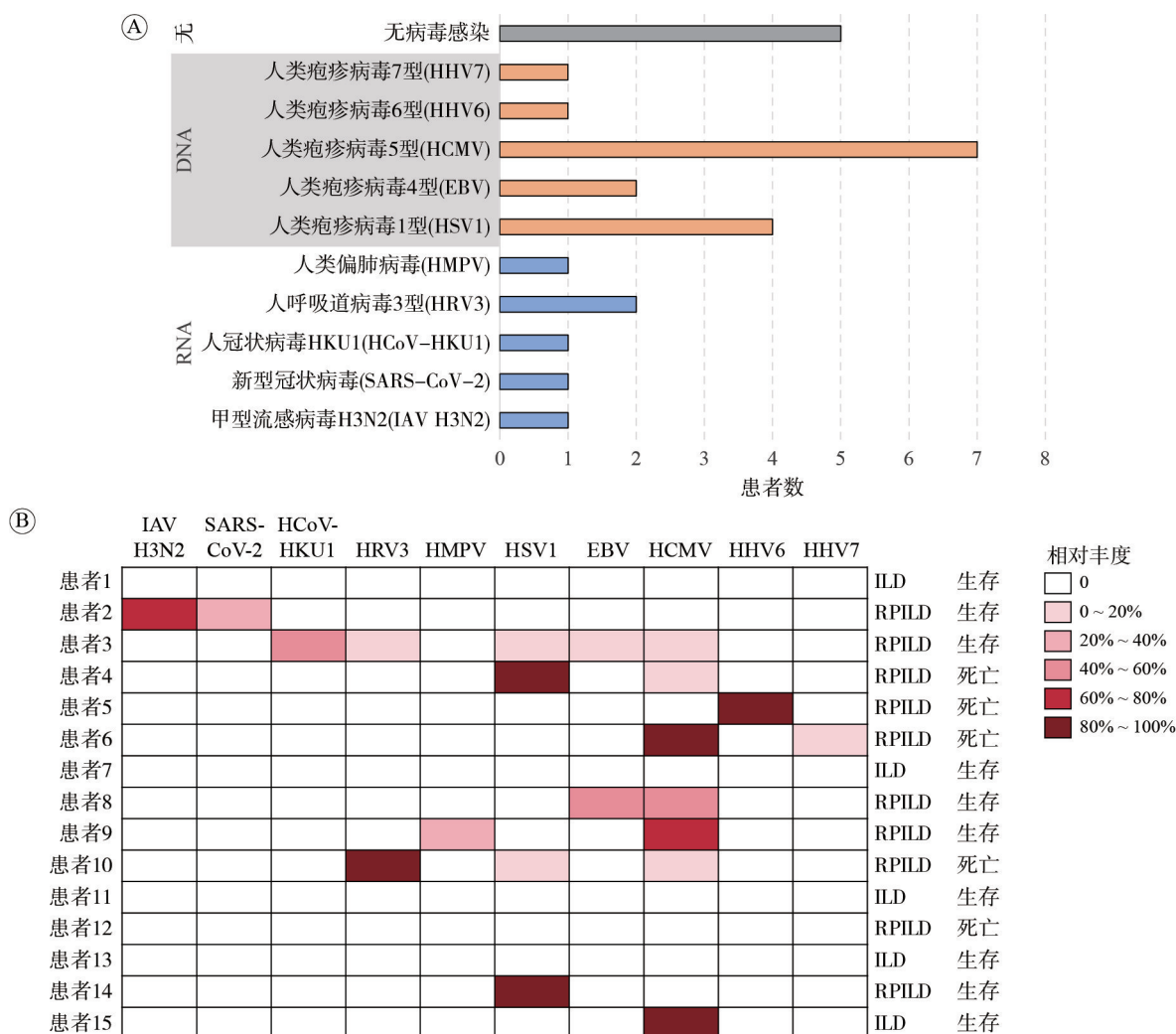


A: 抗MDA5抗体阳性DM患者(组1, n=20)与抗合成酶综合征患者(组2, n=10)外周血免疫细胞亚群计数及白细胞介素-6(IL-6)水平比较; B: 两组患者的疾病严重程度评分比较。

图1 抗MDA5抗体阳性DM与ASS患者的免疫特征

Fig. 1 Immunological characteristics in patients with anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis and anti-synthetase syndrome

细胞模型。实验结果显示,与未感染对照组相比,HCMV或HSV-1感染可上调宿主细胞内干扰素诱导解旋酶c域1(interferon induced with helicase c domain 1, *IFIH1*)基因的转录表达。更为重要的是,病毒感染同时激活了其下游信号通路,促进了I型干扰素(*IFN- $\alpha$* 、*IFN- $\beta$* )及核心炎症因子(*IL-1 $\beta$* 、*IL-6*、*IL-8*、*IL-15*)基因的转录表达,该结果



A: 抗MDA5抗体阳性DM合并ILD患者(n=15)的病毒检出情况总结条形图; B: 抗MDA5抗体阳性DM合并ILD患者(n=15)的相对丰度和共感染分布图, 每一行代表一名患者, 红色颜色深度代表该病毒在该患者BALF样本中所占病毒序列的相对丰度。ILD: interstitial lung disease, 间质性肺病; RPILD: rapidly progressive ILD, 快速进展型间质性肺病。

图2 抗MDA5抗体阳性DM合并ILD患者BALF宏基因组学分析

Fig. 2 Metagenomic analysis of BALF from anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis patients with ILD

表明, HCMV与HSV-1感染是激活MDA5信号通路的有效始动因素, 这一机制可能参与抗MDA5抗体阳性DM异常固有免疫应答及炎症风暴的过程。见图3。

### 2.5 MDA5蛋白基础表达谱具有细胞类型特异性

本研究检测了MDA5在多种人源细胞系, 包括肾上皮细胞HEK293、宫颈癌细胞HeLa、卡波西肉瘤细胞系(SLK、iSLK、iSLK-219)、单核巨噬细胞THP-1、肺上皮细胞A549、肺成纤维细胞MRC-5及脐静脉内皮细胞HUVEC中的基础表达水平。WB分析结果显示, MDA5的组成性表达在不同细胞系间存在统计学差异。其中, 髓系来源的THP-1细胞表达水平最高, 高于肺上皮细胞A549; 值得注意的是, 肺成纤维细胞MRC-5中的表达量

亦较高, 位列第二(图4)。该结果表明, MDA5的基因表达谱具有明显的细胞类型特异性, 其表达水平与细胞在固有免疫防御中的专职角色密切相关, 这为理解不同组织细胞在抗病毒免疫中的初始状态和应答潜能提供了一个依据。

### 2.6 病毒感染对MDA5蛋白表达水平及稳定性的影响

**2.6.1 HCMV感染上调MDA5蛋白的表达并激活下游信号通路** 本研究评估HCMV感染对THP-1细胞的MDA5蛋白表达及通路活化的影响, WB检测结果显示, 与未感染对照组相比, HCMV感染可上调THP-1细胞内MDA5的总蛋白水平。值得注意的是, 在MDA5蛋白水平升高的同时, 其下游关键信号分子磷酸化TANK结合激酶1

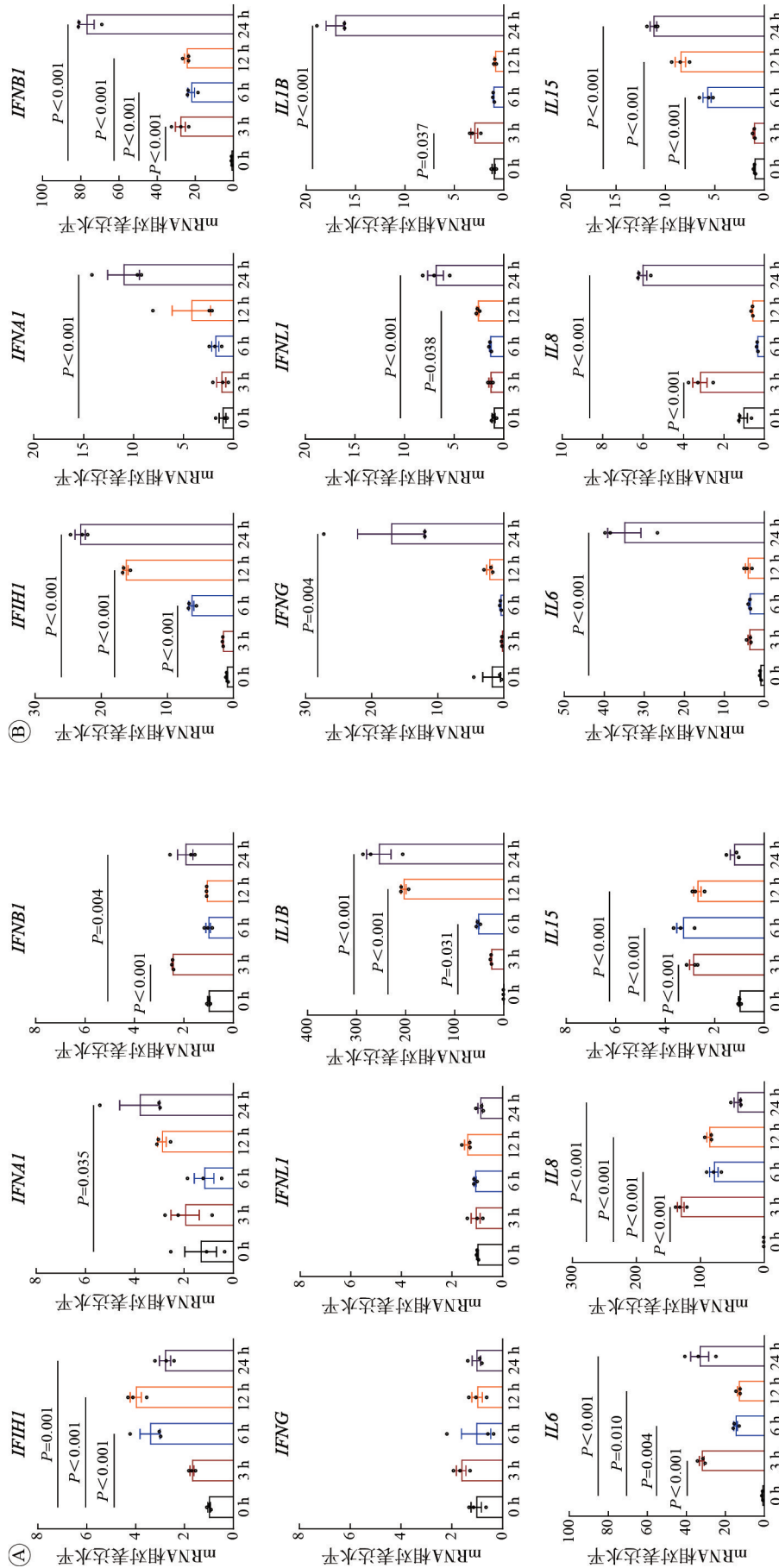
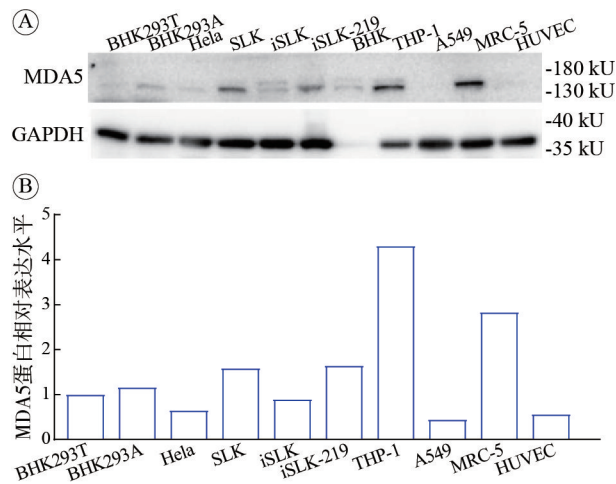


图 3 HCMV 及 HSV-1 感染对 MDA5 相关通路基因转录表达水平的影响

Fig. 3 Effects of HCMV and HSV-1 infection on the transcriptional expression of MDA5 signaling pathway genes

A: THP-1 细胞经 HCMV(MOI=0.02) 分别感染 0、3、6、12 及 24 h 后, 采用 RT-qPCR 检测各时间点指定基因 mRNA 的表达水平; B: THP-1 细胞经 HSV-1(MOI=1) 分别感染 0、3、6、12 及 24 h 后, 采用 RT-qPCR 检测各时间点指定基因 mRNA 的表达水平。纵轴表示各基因表达倍数=2<sup>-ΔΔCt</sup>, 详细计算过程见方法。横轴代表病毒感染时间。



A: 通过WB检测不同细胞系中MDA5蛋白表达水平, GAPDH为内参; B: 使用Image J软件对(A)图中的蛋白条带进行灰度值分析, MDA5蛋白相对表达水平, 以相对于BHK293T细胞的MDA5/GAPDH灰度值比值为基准(设为1.0)进行计算, 结果来源于一次代表性实验。

图4 不同细胞系中MDA5蛋白基础表达水平的差异

Fig. 4 Differential basal expression levels of MDA5 protein across various cell lines

(phosphorylated TANK-binding kinase 1, p-TBK1)、磷酸化的干扰素调节因子3(phosphorylated Interferon regulatory factor 3, p-IRF3)的水平也呈现同步增加(图5)。MDA5表达上调与其下游信号分子的激活同步发生, 这不仅从蛋白水平验证了病毒感染对MDA5的诱导作用, 更有力地证实了病毒感染能够激活从MDA5到TBK1/IRF3的完整信号通路, 从而启动后续的固有免疫应答。

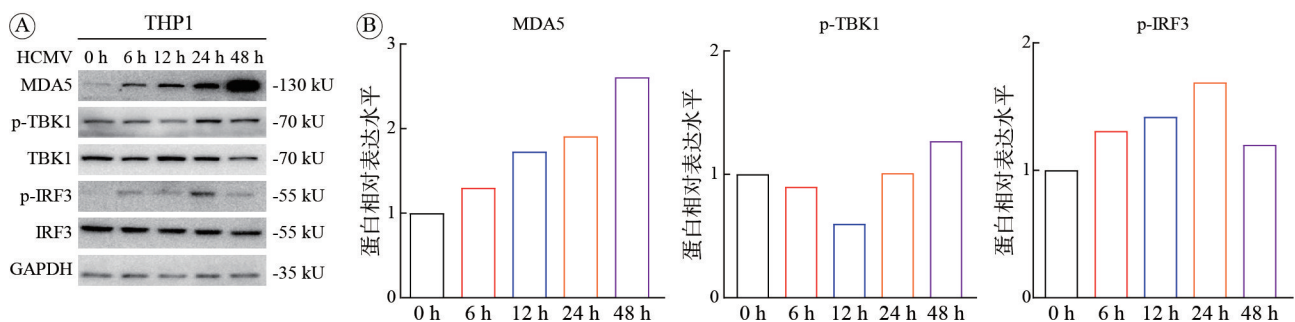
**2.6.2 病毒感染通过延长半衰期增强MDA5蛋白的稳定性** 本研究检测不同病毒感染的早期应答, 结果显示, IAV感染THP-1细胞6 h后, IFIH1的转录水平未见增加; 而HCoV-OC43感染虽可诱导IFIH1的mRNA表达升高约2倍, 但其增幅远低于

蛋白水平的剧烈增加(图6AB)。上述结果提示, 转录上调并非MDA5蛋白积累的主要原因。为直接验证病毒感染是否通过翻译后水平调控增强MDA5稳定性, 在IAV或HCoV-OC43感染THP-1细胞后, 利用蛋白质合成抑制剂放线菌酮追踪MDA5的降解动力学。结果显示, 与未感染对照组相比, 病毒感染延缓了MDA5蛋白的降解速率, 有效延长了其半衰期(图6CF)。本研究揭示, 病毒感染通过“抑制蛋白降解”的翻译后机制, 与经典的转录激活通路协同作用, 共同确保MDA5在感染后期得以快速、持续地累积, 从而高效放大抗病毒固有免疫信号。

### 3 讨论

尽管有多项流行病学和临床观察研究提示病毒感染可能是触发抗MDA5抗体阳性DM的重要环境因素, 但两者之间的因果关系及具体的分子机制仍然未知。先前的研究多局限于季节性特征模式(该病冬春季好发, 与流感病毒流行的高峰期重叠)<sup>[20-22]</sup>或临床观察研究<sup>[18,27]</sup>, 缺乏来自病变肺部微环境的直接病原学证据, 以及能够阐明具体通路的实验支持。本研究通过整合患者的肺泡灌洗液宏基因组学测序及体外功能实验, 初步探讨了病毒感染在抗MDA5抗体阳性DM发病过程中的潜在作用及其部分分子机制。本研究最主要的发现是, 病毒感染可能通过“转录激活”(如HCMV/HSV-1)与“蛋白稳定性增强”(如IAV/HCoV-OC43)这两种殊途同归的机制, 共同导致MDA5信号的异常累积与持续活化, 从而参与抗MDA5抗体阳性DM合并ILD的病理过程。

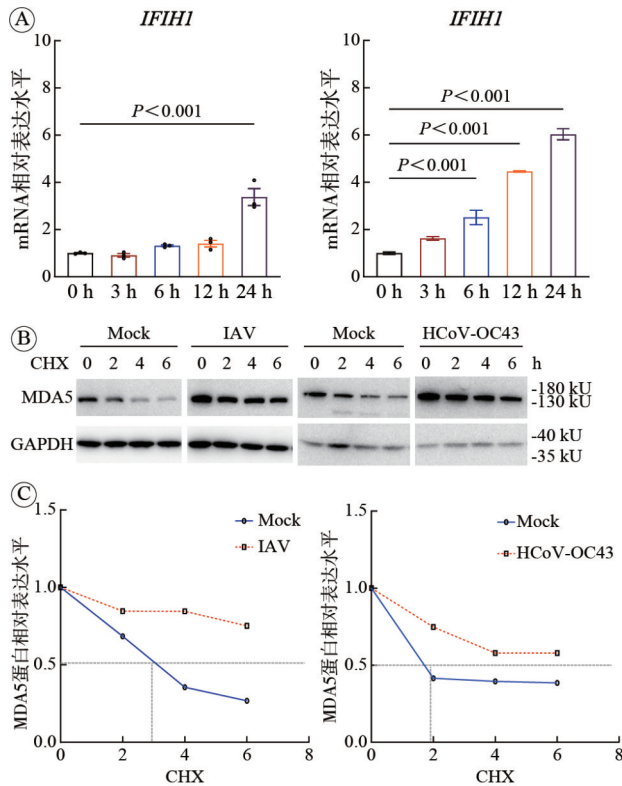
抗MDA5抗体阳性DM患者前3个月是死亡高



A: THP-1细胞经HCMV(MOI=0.02)分别感染0、6、12、24及48 h后, 通过WB检测MDA5、TBK1、p-TBK1、IRF3及p-IRF3蛋白的表达水平, GAPDH为内参; B: 使用Image J软件对(A)图中相应蛋白条带进行灰度值分析, 以感染0 h组MDA5/GAPDH、p-TBK1/TBK1、p-IRF3/IRF3灰度比值为基准(设为1.0)进行计算, 结果来源于一次代表性实验。

图5 病毒感染对MDA5蛋白及下游信号分子表达的影响

Fig. 5 Effect of viral infection on the expression of MDA5 protein and downstream signaling molecules



A: THP-1 细胞分别经 IAV(MOI=0.02)或 HCoV-OC43(MOI=1)感染 0、3、6、12 及 24 h, 采用 RT-qPCR 检测指定基因 mRNA 表达水平。纵轴表示各基因表达倍数=2<sup>-ΔΔCt</sup>, 详细计算过程见方法, 横轴代表病毒感染时间。干扰素诱导解旋酶 C 域 1(interferon induced with helicase c domain 1, IFIH1); B: THP-1 细胞经 IAV(MOI=0.02)或 HCoV-OC43(MOI=1)感染 5 h 后, 加入 50 μg/mL CHX 处理细胞 0、2、4 及 6 h, 对照组(Mock)和实验组(IAV 或 HCoV-OC43), 通过 WB 检测 MDA5 蛋白表达水平, GAPDH 作为内参; C: 使用 Image J 软件对图(C-D)蛋白条带进行灰度分析, MDA5 蛋白相对表达水平是以感染 0 h 组 MDA5/GAPDH 灰度比值为基准(设为 1.0)进行计算, 结果来源于一次代表性实验。

图 6 病毒感染对 MDA5 蛋白稳定性的影响

Fig. 6 Effect of viral infection on MDA5 protein stability

危时间窗<sup>[14]</sup>, 目前该疾病的基础治疗方案是糖皮质激素联合免疫抑制剂<sup>[1]</sup>, 最新 Fu 等<sup>[28]</sup>报道 JAKi 联合蛋白 A 免疫吸附治疗可以提高抗 MDA5 抗体阳性 DM 合并 RPILD 患者的生存率, 以及 Wu 等<sup>[3]</sup>通过多中心队列研究发现托法替尼相较于钙调神经磷酸酶抑制剂能明显改善抗 MDA5 抗体阳性 DM 合并 ILD 的一年生存率, 虽然针对 I 型干扰素通路的 JAKi 药物已显示出在改善早期该疾病存活率等方面的疗效<sup>[29-30]</sup>, 但其具体免疫病理机制尚未完全阐明。本研究选择 ASS 作为对照组, 旨在凸显抗 MDA5 抗体阳性 DM 独特的临床-免疫学表型。选择 ASS 而非其他 ILD 或健康对照, 主要基于以下考量: 首先, ASS 与抗 MDA5 抗体阳性 DM 同属 IIM 的重要亚型, 且均为合并 ILD 的最高风险亚

型, 这使得两组在“肌炎相关 ILD”这一共同基础上具有可比性<sup>[31]</sup>。其次, 尽管存在共同点, 但两者的驱动自身抗体(抗氨基酰-tRNA 合成酶抗体 vs 抗 MDA5 抗体)与核心免疫病理机制(如 I 型干扰素信号激活的强度和模式)被认为存在差异<sup>[32]</sup>。因此, 通过与 ASS 的比较, 更精确地揭示出由抗 MDA5 抗体本身所驱动的独特疾病特征, 而非所有肌炎相关 ILD 的共性。

本研究发现, 与 ASS 患者相比, 抗 MDA5 抗体阳性 DM 患者皮肤溃疡和 RPILD 的发生率更高, 并伴有外周血淋巴细胞(尤其 CD4<sup>+</sup> 与 CD8<sup>+</sup> T 细胞)耗竭及血清 IL-6 水平升高, 提示其免疫状态呈现炎症激活与 T 细胞数量下降并存的复杂特征。这一发现与 Jin 等<sup>[8]</sup>和 Zuo 等<sup>[14]</sup>的研究一致, 他们同样报道了淋巴细胞减少是此类患者预后不良的标志。然而, 本研究进一步将这种免疫失调与肺部病毒感染背景联系起来。例如, Maguire 等<sup>[33]</sup>通过大规模生信比对病毒蛋白质组和人类蛋白质组, 发现疱疹病毒可以通过分子模仿机制引发自身免疫性疾病, Huang 等<sup>[34]</sup>前瞻性队列研究报道 HCMV 感染与抗 MDA5 抗体阳性 DM 患者的发病和预后相关, Liu 等<sup>[35]</sup>通过基因表达综合(gene expression omnibus, GEO)数据库进行基因富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)发现“单纯疱疹病毒 1 型感染”这条通路在 DM 中上调, 而我们的 BALF 宏基因组学数据分析将病毒感染这一关联定位至疾病的“靶器官”——肺部, 并发现重症的 RPILD 患者有较高比例 HCMV 和 HSV-1 感染, 这提示疱疹病毒感染可能加剧肺部的免疫炎症反应, 这可能是以前研究未曾报道过的。

在分子机制层面, 既往关于病毒感染激活 MDA5 通路的研究大多聚焦于转录水平的调控<sup>[36-37]</sup>, 本研究发现 HCMV/HSV-1 确实能诱导 MDA5 及其下游细胞因子(*IFNB1*、*IL1B*、*IL6*、*IL8*、*IL15*)的转录水平上调。然而, 本研究最具创新性的发现在于揭示了 IAV 和 HCoV-OC43 可通过一种不依赖于转录上调的、全新的翻译后机制来增强 MDA5 蛋白的稳定性。这与 Zhang 等<sup>[38]</sup>近期提出的 USP8 去泛素化酶在维持脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis virus, EMCV)感染 THP-1 细胞的 MDA5 稳态中的作用相呼应, 但不同之处在于, 本研究首次将这种稳定性调控机制与特定的呼吸道病毒感染(IAV, HCoV-OC43)直接关联。推测 IAV/HCoV-OC43 可能通过上调如 USP8 等去泛

素化酶,或利用病毒蛋白与MDA5结合从而竞争其E3连接酶,进而抑制其泛素化降解。尽管本研究为MDA5的转录后稳定性调控提供了实验证据,但其背后精确的分子机制尚属未知,有待后续研究揭示。从病理生理学角度看,上述发现具有启示意义。不同病毒可能通过“转录激活”与“增强蛋白稳定性”等不同途径,共同导致MDA5信号的异常累积与持续活化,这为理解抗MDA5抗体阳性DM合并ILD中I型干扰素风暴的持续存在提供了新的视角。此发现也为未来探索针对不同感染背景的差异化干预策略提示了潜在方向。

本研究将我们置于“因果关系”这一核心问题的十字路口。尽管横断面设计无法确定因果推论,但现有数据支持一个“二次打击”或“恶性循环”关系来替代简单的线性因果关系。我们推测,患者固有的自身免疫异常是“第一次打击”,其本身或后续的免疫抑制治疗破坏了肺部的免疫稳态,这为潜伏病毒的“再激活”创造了条件(即病毒作为“结果”)。然而,一旦病毒(尤其是如我们体外实验证实的、能强效激活MDA5通路的疱疹病毒、甲型流感病毒、冠状病毒)开始复制,它们便构成了“第二次打击”,通过持续放大的I型干扰素和炎症反应,驱动患者向RPILD的危重病程转变。本研究中,病毒感染可能应被视为“疾病进程的放大器”,而非单纯的起因或伴随现象。此外,本研究发现MDA5在不同细胞系中基础表达存在差异。其中,髓系来源的THP-1细胞中MDA5表达较高,这与MDA5作为免疫细胞核心病毒传感器的经典角色相符<sup>[39]</sup>。尤为值得注意的是,本研究发现肺成纤维细胞MRC-5中的MDA5表达量高于肺上皮细胞A549,这一发现拓展了既往对MDA5细胞分布与功能的认知。以往研究多集中于MDA5在肺上皮细胞<sup>[12]</sup>、微血管内皮细胞<sup>[40]</sup>和单核-巨噬细胞<sup>[41]</sup>等对抗RNA病毒中的核心作用,而本研究提示,在抗MDA5抗体阳性DM的肺部病变中,成纤维细胞可能不仅仅是纤维化的执行者,其高水平的MDA5表达使其具备作为病毒感知‘前哨’的能力,能够在感染早期启动I型干扰素应答,从而在肺部炎症与纤维化的启动和放大过程中扮演主动角色。这一发现为理解RPILD的发病机制提供了新的细胞视角。

本研究存在若干局限性。首先,本研究样本量有限且为单中心研究,ASS对照组样本量较小且未进行严格匹配,虽然选择ASS作为对照组虽

有助于凸显临床表型差异,但在阐明MDA5特异性机制方面存在一些局限性。其次,BALF样本中病毒检测为单一时间点,难以精确界定病毒感染与病情恶化的时序关系。第三,体外实验主要使用THP-1细胞,未能涵盖肺上皮细胞(如A549)和肺成纤维细胞(如MRC-5)等在ILD中至关重要的细胞类型,目前肺类器官能成功模拟不同疾病的肺部微环境<sup>[42-43]</sup>,未来在A549、MRC-5等细胞模型和肺类器官中进行验证将能更全面地揭示病毒-肺组织互作的机制。

综上所述,本研究通过临床与基础的结合,发现了病毒感染可能是抗MDA5抗体阳性DM合并ILD的重要驱动因素之一,更重要的是我们发现病毒感染可能通过转录激活与蛋白稳定性增强双重途径调控MDA5通路,从而参与抗MDA5抗体阳性DM合并ILD的疾病过程。展望未来,以下几方面值得深入探索:其一,未来可以分析抗MDA5抗体阳性DM和抗MDA5抗体阴性患者的临床和免疫学特征以及通过多中心合作扩大患者的样本量;其二,系统阐释IAV与HCoV-OC43调控MDA5稳定性的具体分子机制。可采用免疫共沉淀-质谱联用技术筛选与MDA5相互作用的去泛素化酶/E3连接酶,并结合基因编辑手段进行功能验证,以期绘制该调控通路的精确分子图谱;其三,在A549、MRC-5等肺相关细胞模型和肺类器官中进行功能验证,以更贴近肺组织病变的实际情况。未来上述研究将为开发靶向MDA5蛋白降解的治疗策略奠定理论基础。

**作者贡献** 刘姝孜:论文构思和撰写,实验操作,数据分析;赵征:数据分析,论文修订和临床样本的收集;段智梅、王凯飞、胡烨、谭尧、刘铮:临床样本的收集;谢菲:数据分析,论文修订和整体指导。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突。

**数据共享声明** 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取,Email: szldoctor@163.com。

**致谢** 衷心感谢中国科学院生物物理研究所邓红雨研究员、田华彬副研究员提供细胞系和病毒毒株以及在基础实验技术上的指导。

#### 参考文献

- 1 Lu X, Peng QL, Wang GC. Anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis: pathogenesis and clinical progress [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2024, 20 (1): 48-62.
- 2 Cavagna L, Meloni F, Meyer A, et al. Clinical spectrum time course in non-Asian patients positive for anti-MDA5 antibodies

- [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2022, 40 (2): 274-283.
- 3 Wu WL, Guo BP, Sun WJ, et al. Effectiveness and safety of tofacitinib versus calcineurin inhibitor in interstitial lung disease secondary to anti-MDA5-positive dermatomyositis: a multicentre cohort study [J]. *Eur Respir J*, 2025, 65 (5): 2401488.
  - 4 He CJ, Li WY, Xie QB, et al. Rituximab in the treatment of interstitial lung diseases related to anti-melanoma differentiation-associated gene 5 dermatomyositis: a systematic review [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 820163.
  - 5 张丽丽, 张春阳, 韩志海, 等. 纤维化性间质性肺疾病进展预测模型构建研究 [J]. *解放军医学院学报*, 2025, 46 (3): 271-278.
  - 6 Yoshida A, Gono T, Okazaki Y, et al. Dysregulated type I/III interferon system in circulation from patients with anti-MDA5-positive dermatomyositis [J]. *Sci Rep*, 2025, 15 (1): 25537.
  - 7 Nakamura S, Okamoto Y, Takada H, et al. A shared monocyte cytokine signature induced by serum from patients with systemic lupus erythematosus and anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis through the type I interferon pathway [J]. *Immunol Lett*, 2025, 276: 107066.
  - 8 Jin QW, Fu LJ, Yang HX, et al. Peripheral lymphocyte count defines the clinical phenotypes and prognosis in patients with anti-MDA5-positive dermatomyositis [J]. *J Intern Med*, 2023, 293 (4): 494-507.
  - 9 Zuo Y, Ye LF, Chen F, et al. Different multivariable risk factors for rapid progressive interstitial lung disease in anti-MDA5 positive dermatomyositis and anti-synthetase syndrome [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 845988.
  - 10 Niu YY, Liu SL, Qiu Q, et al. Increased serum level of IL-6 predicts poor prognosis in anti-MDA5-positive dermatomyositis with rapidly progressive interstitial lung disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2024, 26 (1): 184.
  - 11 Kogami M, Abe Y, Ando T, et al. Changes in anti-MDA5 antibody titres and serum cytokine levels before and after diagnosis of anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis [J]. *Rheumatol Oxf*, 2023, 62 (7): 2525-2533.
  - 12 Shimizu T, Koga T, Furukawa K, et al. IL-15 is a biomarker involved in the development of rapidly progressive interstitial lung disease complicated with polymyositis/dermatomyositis [J]. *J Intern Med*, 2021, 289 (2): 206-220.
  - 13 Yoneyama M, Kato H, Fujita T. Physiological functions of RIG-I-like receptors [J]. *Immunity*, 2024, 57 (4): 731-751.
  - 14 Xu LX, You HX, Wang L, et al. Identification of three different phenotypes in anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody-positive dermatomyositis patients: implications for prediction of rapidly progressive interstitial lung disease [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2023, 75 (4): 609-619.
  - 15 Ji Q, Pan WP, Zhang D, et al. Comparison of characteristics and anti-MDA5 antibody distribution and effect between clinically amyopathic dermatomyositis and classic dermatomyositis: a retrospective case-control study [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1237209.
  - 16 Tonutti A, Motta F, Ceribelli A, et al. Anti-MDA5 antibody linking COVID-19, type I interferon, and autoimmunity: a case report and systematic literature review [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 937667.
  - 17 Nombel A, Fabien N, Coutant F. Dermatomyositis with anti-MDA5 antibodies: bioclinical features, pathogenesis and emerging therapies [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 773352.
  - 18 McHugh J. COVID-19 linked to rise in anti-MDA5 autoimmunity [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2024, 20 (7): 395.
  - 19 David P, Sinha S, Iqbal K, et al. MDA5-autoimmunity and interstitial pneumonitis contemporaneous with the COVID-19 pandemic (MIP-C) [J]. *EBioMedicine*, 2024, 104: 105136.
  - 20 So H, So J, Lam TT, et al. Seasonal effect on disease onset and presentation in anti-MDA5 positive dermatomyositis [J]. *Front Med*, 2022, 9: 837024.
  - 21 Toquet S, Granger B, Uzunhan Y, et al. The seasonality of Dermatomyositis associated with anti-MDA5 antibody: An argument for a respiratory viral trigger [J]. *Autoimmun Rev*, 2021, 20 (4): 102788.
  - 22 Nishina N, Sato S, Masui K, et al. Seasonal and residential clustering at disease onset of anti-MDA5-associated interstitial lung disease [J]. *RMD Open*, 2020, 6 (2): e001202.
  - 23 Sehgal S, Patel A, Chatterjee S, et al. Idiopathic inflammatory myopathies related lung disease in adults [J]. *Lancet Respir Med*, 2025, 13 (3): 272-288.
  - 24 Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, et al. 2017 European league against rheumatism/American college of rheumatology classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69 (12): 2271-2282.
  - 25 Travis WD, Costabel U, Hansell DM, et al. An official American thoracic society/European respiratory society statement: update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188 (6): 733-748.
  - 26 Kondoh Y, Taniguchi H, Kataoka K, et al. Prognostic factors in rapidly progressive interstitial pneumonia [J]. *Respirology*, 2010, 15 (2): 257-264.
  - 27 Wang G, Wang Q, Wang YM, et al. Presence of anti-MDA5 antibody and its value for the clinical assessment in patients with COVID-19: a retrospective cohort study [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 791348.
  - 28 Fu YK, Chen ZW, Chen J, et al. Efficacy of JAK inhibitor combined with protein A immunoadsorption in MDA5+ dermatomyositis with RPILD: A real-world study [J]. *Med*, 2025, 6 (10): 100802.
  - 29 Yanagihara T, Mirza RD, Kolb MRJ. Tofacitinib in anti-MDA5-positive dermatomyositis-associated interstitial lung disease: a new standard of care emerges [J]. *Eur Respir J*, 2025, 65 (5): 2500458.
  - 30 Pagis V, Astouati Q, Pacoureau L, et al. Janus kinase and calcineurin-inhibitor combination in anti-MDA5 dermatomyositis: No significant survival benefit but reassuring safety profile [J/OL]. <https://doi.org/10.1111/joim.70047>.
  - 31 Allameen NA, Ramos-Lisbona AI, Wedderburn LR, et al. An update on autoantibodies in the idiopathic inflammatory myopathies [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2025, 21 (1): 46-62.
  - 32 Wu SY, Xiao XY, Zhang YF, et al. Novel endotypes of antisynthetase syndrome identified independent of anti-aminoacyl transfer RNA synthetase antibody specificity that improve prognostic stratification [J]. *Ann Rheum Dis*, 2024, 83 (6): 775-786.
  - 33 Maguire C, Wang CM, Ramasamy A, et al. Molecular mimicry as a mechanism of viral immune evasion and autoimmunity [J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1): 9403.
  - 34 Huang LL, Zhu WB, Ye Y, et al. Association of cytomegalovirus infection with anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis: a prospective cohort study [J]. *Front Med*, 2021, 8: 740154.