

空間トランスクリプトームを用いた肉芽腫多核巨細胞の解析

中溝 聡

京都大学 大学院医学研究科

【研究の背景】

サルコイドーシスは、皮膚、肺、リンパ節、心臓、眼など全身の多臓器に肉芽腫を形成する原因不明の炎症性疾患であり、線維化や臓器障害により重篤な転帰をとる症例も少なくない。副腎皮質ステロイドは第一選択薬として広く用いられるが、治療中止後に約半数で再燃がみられ、さらに長期投与に伴う高血糖、骨粗しょう症、感染症などの重大な副作用が問題となるため、より安全で根本的な新規治療標的の探索が急務である。近年、病変部皮膚の 1 細胞 RNA シークエンス解析により、MMP9、MMP12、MMP14 などのマトリックスメタロプロテアーゼや CXCL9-11 などの Th1 細胞遊走ケモカインが高発現することが報告され¹⁻²⁾、JAK 阻害薬などの免疫抑制薬が候補として検討されているが、依然として重篤な副作用を伴い抜本的解決には至っていない。筆者らはこれまでに 1 細胞 RNA シークエンスを用いて炎症性皮膚疾患の抗原提示細胞・マクロファージサブセットを同定し、サルコイドーシス皮膚病変で TREM2 陽性マクロファージとペントースリン酸回路亢進を見出し、その阻害が肉芽腫形成を抑制しうることを示してきた³⁾。もっとも、従来のドロップレット型 1 細胞解析では流路サイズの制約から、サルコイドーシス肉芽腫に特徴的な多核巨細胞の包括的解析が困難であり、その機能および形成メカニズムは未解明のままであった。

【目 的】

本研究の目的は、サルコイドーシス肉芽腫における多核巨細胞の細胞学的特徴と分子基盤を明らかにし、巨細胞形成および維持に必須な分子を同定することで、新規治療標的候補を提示することである。具体的には、空間トランスクリプトーム解析を用いて多核巨細胞を含む肉芽腫構造の遺伝子発現と細胞形態を統合的に解析し、得られた候補分子(特にチオレドキシ還元酵素 TXNRD1)について免疫染色および in vitro 巨細胞形成モデルを用いて機能的意義を検証することを目指した。

【方 法】

京都大学病院を受診した皮膚病変を有するサルコイドーシス患者のうち、研究参加に同意した症例から病変皮膚を生検し、Visium (10x Genomics) による空間トランスクリプトーム解析を実施した。HE 染色像をもとに各スポットに含まれる細胞構成を評価し、スポット内細胞の 8 割以上を多核巨細胞が占めるスポットを「巨細胞スポット」と定義して遺伝子発現解析を行い、他スポットと比較して特異的に高発現する遺伝子群を抽出した。さらに、候補分子 TXNRD1 についてサルコイドーシス皮膚病変切片で免疫染色を行い、多核巨細胞におけるタンパク質発現を評価した。機能解析として、ヒト末梢血単球を MACS により分離し、コンカナバリン A、インターフェロン- γ 、抗 CD40L 抗体存在下で培養して in vitro 肉芽腫・巨細胞形成モデルを構築し、既存 TXNRD 阻害薬オーラフィンおよび TXNRD1 選択的阻害薬 Tri-1 を添加して巨細胞形成への影響を顕微鏡学的に定量した。

【結 果】

空間トランスクリプトーム解析により、多核巨細胞が優位に存在する巨細胞スポットからは、食食関連および脂質代謝関連遺伝子の発現が顕著に増加していることが明らかとなった。個別遺伝子の検討では、破骨細胞での発現が知られる ATP6V0D2 や SPP1 などが多核巨細胞で高発現しており、とくに酸化ストレス防御に関与する TXNRD1 (チオレドキシシン還元酵素) の発現上昇が最も顕著であった。免疫染色の結果、TXNRD1 はサルコイドーシス皮膚病変中の多核巨細胞で選択的に強いシグナルを示し、タンパク質レベルでも巨細胞特異的に発現していることが確認された。さらに、*in vitro* 巨細胞形成モデルにおいてオーラノフィンおよび TRi-1 を添加すると、多核巨細胞の形成が用量依存的に抑制され、TXNRD1 活性が巨細胞形成に必須であることが示唆された。

【考 察】

本研究により、サルコイドーシス肉芽腫における多核巨細胞が、食食能や脂質代謝、酸化ストレス防御に関連する遺伝子群を特異的に高発現する細胞集団であることが空間情報とともに示された。特に TXNRD1 は、多核巨細胞において転写レベルおよびタンパク質レベルで選択的に高発現しており、その阻害により *in vitro* で巨細胞形成が抑制されたことから、多核巨細胞の維持・融合プロセスに中心的役割を果たす分子と考えられる。TXNRD1 を含むチオレドキシシン系は細胞内酸化還元制御や NF- κ B 経路を介した炎症応答調節に関与することが報告されており、サルコイドーシス肉芽腫内の活性酸素種産生が亢進した環境下で、多核巨細胞が高レベルの TXNRD1 を発現することは、細胞機能維持および炎症性シグナルの統御に適応的に寄与している可能性がある。多核巨細胞は食食能と脂質代謝も亢進していることから、異物除去や脂質蓄積制御を通じて肉芽腫構造の恒常性維持および炎症の慢性化に関与していると推察される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

TXNRD1 がサルコイドーシス肉芽腫内の多核巨細胞で特異的に高発現し、その阻害により巨細胞形成が抑制されるという本研究の知見は、肉芽腫形成そのものを標的とする分子標的治療の新たな候補を提示するものである。従来の副腎皮質ステロイドや汎用免疫抑制薬が全身的な免疫抑制と重篤な副作用を伴うのに対し、TXNRD1 のように肉芽腫構造維持に直接関与する分子を標的とすることで、より選択性が高く安全性に優れた治療戦略が期待される。特に、オーラノフィンは既に臨床使用されている TXNRD 阻害薬であり、薬物動態や安全性に関する情報が蓄積されていることから、サルコイドーシスに対するドラッグ・リポジショニングの候補として臨床応用までのタイムラインを短縮しうる。さらに、心臓サルコイドーシスを含む他臓器病変でも代謝経路の異常や肉芽腫形成が共通基盤として報告されつつあり、TXNRD1 阻害は臓器横断的に適用可能な治療コンセプトとなる可能性がある。

【参考・引用文献】

- 1) Damsky W, et al. Nat Commun. 2022.
- 2) Krausgruber T, et al. Immunity. 2023.
- 3) Nakamizo S, et al. J Clin Invest. 2023.