

高精度シングルセル解析による関節リウマチ重症化機構の解明

中野正博

理化学研究所 生命医科学研究センター ヒト免疫遺伝研究チーム

【研究の背景】

関節リウマチ (rheumatoid arthritis; RA) は関節滑膜が侵される自己免疫疾患であり、既存の治療に反応不十分な重症予後不良群が臨床での重要課題である。RA の重症化には特定の細胞集団 (病原性細胞) が関与し、その機能は特定の遺伝子 (key driver gene) により制御されると想定される。シングルセル研究ではこのような病原性細胞の同定に最適のツールであるが、1 細胞ごとの情報量の少なさ (sparsity) の問題もあり、多くの研究が 20-40 程度の粗大な細胞集団を定義するに留まっており、病原性細胞の精密な同定とその詳細な機能解明に至っていない。

【目 的】

本研究では、高精度シングルセル解析を RA 患者末梢血に応用することで、重症 RA 患者で増多する病原性細胞とその key driver gene を精密に同定し、その機能を明らかにすることを目的とする。さらに、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus; SLE) をはじめとする他の自己免疫疾患の大規模シングルセルデータとの統合解析を実施することで、RA 特異的な病原性細胞の同定も目指す。

【方 法】

重症、軽症を含む RA 90 症例の末梢血検体を収集し、遺伝子発現と細胞表面マーカーを同時に評価する Cellular Indexing of Transcriptomes and Epitopes by Sequencing (CITE-seq) による高精度シングルセル解析を実施した。さらに、今年度は 1 細胞レベルでのオープンクロマチン領域を同定する ATAC-seq データ (multiome) を追加した。

さらに申請者は、RA 病原性細胞と key driver gene の精密な同定のためには、従来の研究よりも微細な細胞集団を定義し、既存のシングルセル解析手法とは異なる解析パイプラインが必要になると考え、上記の CITE-seq データ収集と並行して、SLE の大規模シングルセルデータを用いた新たな解析手法の開発を行なった。

【結 果】

まず、SLE の世界最大規模の多層シングルセルデータ (~2,100,000 細胞、346 例) を用いた新たなシングルセル解析戦略 (cellular and molecular fine mapping) を構築し、27 の免疫細胞種における 123 の細胞集団を同定した。このうち、従来注目されていなかった ARHGAP15⁺FOXO1⁺ T cells、GZMK⁺GZMH⁺HLA-DR⁺ effector memory (EM) CD8⁺ T cells が重症 SLE で増多し、それらの細胞集団に特徴的な転写制御因子や細胞表面マーカーの同定に成功した (投稿中)¹⁾。

次に、本解析手法を RA の CITE-seq data へ応用し、RA における病原性細胞の同定を試みた。軽症 RA に比して、重症 RA においても上述した ARHGAP15⁺FOXO1⁺ T cells、GZMK⁺GZMH⁺HLA-DR⁺ effector memory CD8⁺ T cells といった細胞集団が増多することが新たに見出された。さらに、SLE データとの統合解析においては、C1Q⁺ monocyte は重症 SLE 症例で増多するものの RA 症例における増多は軽微であることが示された。

【考 察】

ARHGAP15⁺FOXO1⁺ T cells、GZMK⁺GZMH⁺HLA-DR⁺ EM CD8⁺ T cells は SLE のみならず RA においても病態の主軸を担っている可能性が強く示唆された。現在 multiome data を含めた詳細な解析を継続中であり、RA に特異的な病原性細胞の同定と、同集団の機能を駆動する key driver gene の同定を目指す。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

RA の病原性細胞と key driver gene の機能を詳細に解明することで、RA のさらなる病態理解と新規治療標的に繋がる知見を得ることが可能となる。また、RA と SLE に特異的な病原性細胞を同定することで、各々の病態に即した個別化医療の実現を目指す。

【参考・引用文献】

- [1] M Nakano *et al.* Cellular and molecular fine mapping pinpoints new immunopathology of lupus. (投稿、査読中)
(Preprint; doi: <https://doi.org/10.64898/2025.12.08.693110>)