

関節リウマチの遺伝素因と関連する新規治療標的を同定 —炎症環境下における滑膜線維芽細胞の統合的解析で実現—

1. 発表者：

土屋 遥香（東京大学医学部附属病院 アレルギー・リウマチ内科 助教）
太田 峰人（東京大学大学院 医学系研究科 免疫疾患機能ゲノム学講座 特任助教）
藤尾 圭志（東京大学医学部附属病院 アレルギー・リウマチ内科 教授）
鈴木 亜香里（理化学研究所 生命医科学研究センター 自己免疫疾患研究チーム
副チームリーダー）
山本 一彦（理化学研究所 生命医科学研究センター センター長）

2. 発表のポイント：

- ◆ 関節リウマチの滑膜線維芽細胞を対象に、ゲノム、トランスクリプトーム、エピゲノムを統合的に解析し、複合的な炎症環境下における滑膜線維芽細胞のクロマチン構造変化が、関節リウマチの疾患感受性と関連することを明らかにしました。また、この病的な構造変化に重要な転写因子を同定し、その阻害薬に関節炎抑制効果があることを発見しました。
- ◆ 本研究では、滑膜線維芽細胞からの炎症メディエーターの遺伝子発現とクロマチン構造変化および疾患感受性多型の関連を、世界で先駆けてカタログ化しました。
- ◆ 関節局所に存在し、炎症や骨軟骨破壊を引き起こす滑膜線維芽細胞を標的とした創薬候補が発見されたことで、既存の薬剤とは全く異なる経路を介した、より全身的な免疫抑制作用の少ない治療開発につながることを期待されます。

3. 発表概要：

関節リウマチは、持続的な滑膜（図1）の炎症が関節破壊をもたらす代表的な自己免疫疾患（注1）です。近年登場した生物学的製剤や分子標的薬は、関節リウマチの治療を大きく発展させました。しかし、これら薬剤の効果が十分に得られない患者の存在や、これら薬剤の投与による全身的な免疫抑制が原因の重篤な有害事象が、治療を行う上で課題となっています。

東京大学医学部附属病院 アレルギー・リウマチ内科の土屋遥香 助教、太田峰人 特任助教（免疫疾患機能ゲノム学講座）、藤尾圭志 教授と、理化学研究所 生命医科学研究センターの鈴木亜香里 自己免疫疾患研究チーム副チームリーダー、山本一彦 センター長らの研究グループは、関節リウマチと変形性関節症（各30例）の滑膜線維芽細胞のゲノム（注2）、トランスクリプトーム（注3）、エピゲノム（注4）を統合的に解析し、炎症環境下の滑膜線維芽細胞における炎症メディエーター（炎症の引き金や増幅につながる物質）の発現とクロマチン（細胞核内にあるDNAとタンパク質の複合体）の構造変化および疾患感受性多型（注5）の関連を、初めて明らかにしました。この研究により、関節局所に存在する滑膜線維芽細胞を標的とした創薬候補が発見されたことで、既存の薬剤とは全く異なる経路を介した、より全身的な免疫抑制作用の少ない治療開発につながることを期待されます。なお、本研究は、日本時間11月2日にヨーロッパリウマチ学会・学会誌 *Annals of the Rheumatic Diseases* に掲載されました。

4. 発表内容：

<研究の背景>

関節リウマチは、持続的な滑膜の炎症が関節破壊をもたらす代表的な自己免疫疾患です。その病態には、遺伝的素因や環境因子を背景に、免疫細胞（T細胞、B細胞、単球など）や間葉系細胞における多彩な分子制御の異常が想定されています。中でも滑膜線維芽細胞は滑膜の表層に存在する多機能な間葉系細胞であり、関節リウマチでは、滑膜線維芽細胞が炎症メディエーター（例えばIL-6などの炎症性サイトカイン）を高発現することで、滑膜炎の惹起と持続に寄与しています。

近年登場した生物学的製剤や分子標的薬は、炎症性サイトカインや免疫細胞間の共刺激分子、シグナル伝達経路を直接的に阻害することで、関節リウマチの治療を大きく発展させました。しかし、これら薬剤の効果が十分に得られない患者の存在や、これら薬剤の投与による全身的な免疫抑制が原因の重篤な有害事象が、治療を行う上で課題となっています。関節局所で滑膜炎の形成に中心的役割を果たす滑膜線維芽細胞を標的とした治療開発は、これらの課題を克服する可能性を秘めています。

これまでに行われた大規模なゲノムワイド関連解析（Genome-wide association study; GWAS）（注6）により、関節リウマチでは100以上の疾患感受性多型が同定されました。GWASで明らかにされた「DNA多型」と「関節リウマチの発症」の因果関係は頑健ですが、その多型の存在により、「どの細胞に」「どのような変化が起こることで」関節リウマチの発症につながるのか、メカニズムは十分に解明されていません。一方、自己免疫疾患を対象とした過去の研究では、疾患感受性多型の多くが細胞種特異的、時には環境特異的に特定の遺伝子の発現を制御すると報告されています。つまり、関節リウマチの炎症ネットワーク形成における滑膜線維芽細胞の詳細な役割や、滑膜線維芽細胞を標的とした創薬の可能性を追求するうえで、ゲノムだけでなく、トランスクリプトームやエピゲノムなどを統合的に解析することが重要です。

<研究内容>

今回、本研究グループは、関節リウマチと変形性関節症（各30例）から滑膜を採取し、滑膜線維芽細胞を単離しました（図2）。更に、これらを関節内の代表的な8種類のサイトカイン（IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6/sIL-6R、IL-17、TGF- β 1、IL-18）と、関節内の複合的な炎症環境を模したこれら8種類の混合（8-mix）で刺激しました。また、同じ患者の末梢血から、5種類の主要な免疫細胞（CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、B細胞、NK細胞、単球）を分取しました。これらの遺伝子発現（トランスクリプトーム）について、次世代シーケンサーを用いたRNAシーケンス（注7）で定量し、ChIPシーケンス（注8）により得られたヒストン修飾情報やHi-C（注9）によるクロマチン3D構造情報（エピゲノム）、SNPアレイ（注10）によるDNA多型情報（ゲノム）との関連を統合的・網羅的に解析しカタログ化しました。滑膜線維芽細胞のDNA多型を含む多層的解析は、世界で初めての試みです。

その結果、まず、関節リウマチと変形性関節症の滑膜線維芽細胞では、炎症刺激に対する応答の大部分は疾患間で共通していましたが、無刺激の状態から一部の遺伝子発現（例えばSOCS5やCXCL11）には明瞭な違いを認めました。その理由として、長期間の炎症環境への暴露により刷り込まれた関節リウマチのエピゲノム異常に由来する可能性が考えられました。また、DNA多型による発現の制御には、細胞種や疾患による違いに加え、炎症刺激による違いが確認されました。例えば、免疫細胞との細胞間相互作用に重要と考えられるCD40は、IFN- γ 刺激により滑膜線維芽細胞で高発現しますが、これは関節リウマチの疾患感受性多型（rs6074022）により制御されることが分かりました。加えて、滑膜線維芽細胞は複合的な炎症環境にさらされることでダイナミックなクロマチン構造の変化を起し、DNAが露出した長

大なエンハンサー領域（スーパーエンハンサー）（注 11）に関節リウマチの疾患感受性多型が多く存在していました。このことは、活性化した滑膜線維芽細胞が、関節リウマチの疾患感受性と関連した炎症ネットワーク形成の一部を担うことを示唆しました。更に、複合的な炎症環境下のスーパーエンハンサー構成に重要な転写因子として **MTF1** を同定し、**siRNA** による *in vitro*（試験管内）のノックダウン実験（特定の遺伝子の発現を抑制する実験）や、阻害薬による *in vivo*（生体内）の治療実験を通じて、**MTF1** は関節炎の形成に重要であることが証明されました（図 3）。

<社会的意義・今後の予定>

本研究は、関節内の炎症環境により活性化した滑膜線維芽細胞が関節リウマチの病態形成に果たす役割と、遺伝子発現制御メカニズムを包括的に明らかにするものです。関節局所に存在する滑膜線維芽細胞を標的とした創薬候補が発見されたことで、既存の薬剤とは全く異なる経路を介した、より全身的な免疫抑制作用の少ない治療開発につながることを期待されます。今後は、**MTF1** の滑膜線維芽細胞や関節炎モデルマウスにおける詳細な機能解析と、臨床への還元を目指したいと考えています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Annals of the Rheumatic Diseases*」（オンライン版：11月2日）

論文タイトル：

Parsing multiomics landscape of activated synovial fibroblasts highlights drug targets linked to genetic risk of rheumatoid arthritis

著者：

Haruka Tsuchiya, Mineto Ota, Shuji Sumitomo, Kazuyoshi Ishigaki, Akari Suzuki, Toyonori Sakata, Yumi Tsuchida, Hiroshi Inui, Jun Hirose, Yuta Kochi, Yuho Kadono, Katsuhiko Shirahige, Sakae Tanaka, Kazuhiko Yamamoto, Keishi Fujio*

DOI 番号：10.1136/annrheumdis-2020-218189

アブストラクト URL：

<https://ard.bmj.com/content/early/2020/11/02/annrheumdis-2020-218189>

6. 問い合わせ先：

<研究内容に関するお問い合わせ先>

東京大学医学部附属病院 アレルギー・リウマチ内科

助教 土屋 遥香（つちや はるか）

TEL：03-3815-5411（内線 33182）

E-mail：tsuchiya-h-int@h.u-tokyo.ac.jp

<広報担当者連絡先>

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当：渡部、小岩井

TEL：03-5800-9188（直通）

E-mail：pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail：ex-press@riken.jp

7. 用語解説：

注 1：自己免疫疾患

細菌やウイルスといった病原体を認識し排除するための免疫システムが異常をきたし、自分の正常な細胞や組織に対して過剰に反応し攻撃を加えることで起こる疾患。

注 2：ゲノム

DNA 上の遺伝情報のすべてを指し、生物の基本設計図となる。ヒトゲノムの DNA は 32 億塩基対からなり、約 23,000 個の遺伝子の情報と、その発現調節部位の情報が含まれる。

注 3：トランスクリプトーム

細胞の中に存在する、遺伝子の転写産物の総体。

注 4：エピゲノム

DNA の塩基配列を変えずに、遺伝子の発現を制御する情報の総体。

注 5：疾患感受性多型

DNA の塩基配列が同じ生物種の個体間で異なる現象を「DNA 多型」と呼び、その多型とある疾患の発症のしやすさに関連がある場合、「疾患感受性多型」とされる。

注 6：ゲノムワイド関連解析 (Genome-wide association study; GWAS)

疾患（発症や治療反応性など）や個体の形質（身長や体重など）に影響する遺伝的多型を網羅的に検出する方法。

注 7：RNA シーケンス

次世代シーケンサーと呼ばれる一度に大量の塩基配列を読み取ることができる装置を用いて、網羅的に遺伝子の発現量を解析する手法。

注 8：ChIP シーケンス

抗体を用いて特定の蛋白質に結合する DNA 領域を回収する手法を、クロマチン免疫沈降 (Chromatin immunoprecipitation; ChIP) と呼ぶ。ChIP シーケンスは、ChIP 産物を次世代シーケンサーで解析することにより、特定の蛋白質の結合領域を同定する方法。

注 9：Hi-C

次世代シーケンサーを用いて、空間的に近接したゲノム領域を網羅的に検出することで、クロマチン 3D 構造を解析する手法。Hi-C は high-throughput chromosome conformation capture の略。

注 10：SNP アレイ

SNP（単塩基多型）と呼ばれる DNA 配列の 1 塩基だけが異なるタイプの DNA 多型を、一度に大量に検出する方法。

注 11：スーパーエンハンサー

細胞の性質を決定する重要な転写因子の多くが結合する、巨大なエンハンサー領域。多因子疾患の疾患感受性多型は、疾患責任細胞のスーパーエンハンサーに多く存在するとされる。

8. 添付資料：

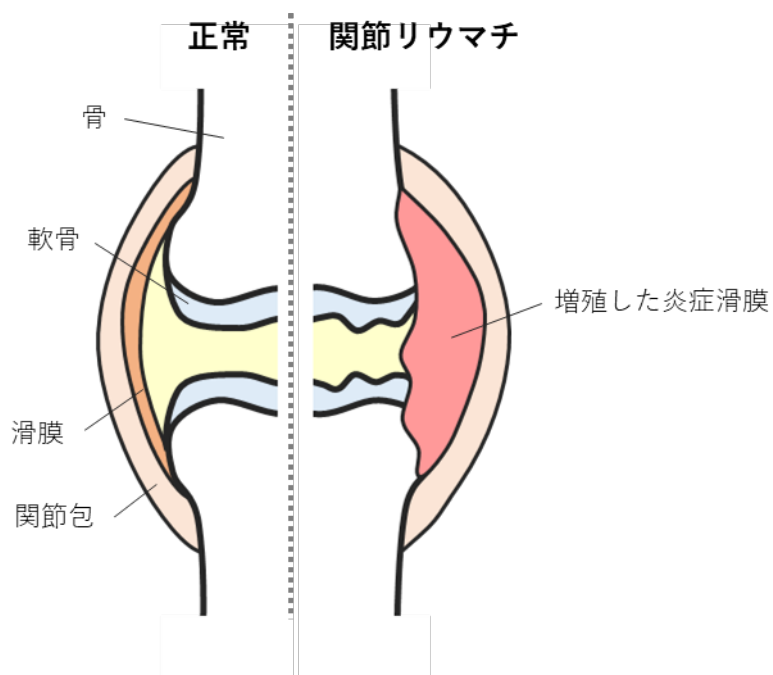


図 1. 関節の構造

正常な関節（左）と関節リウマチ患者の関節（右）。関節リウマチでは、持続的な滑膜の炎症が関節破壊をもたらす。

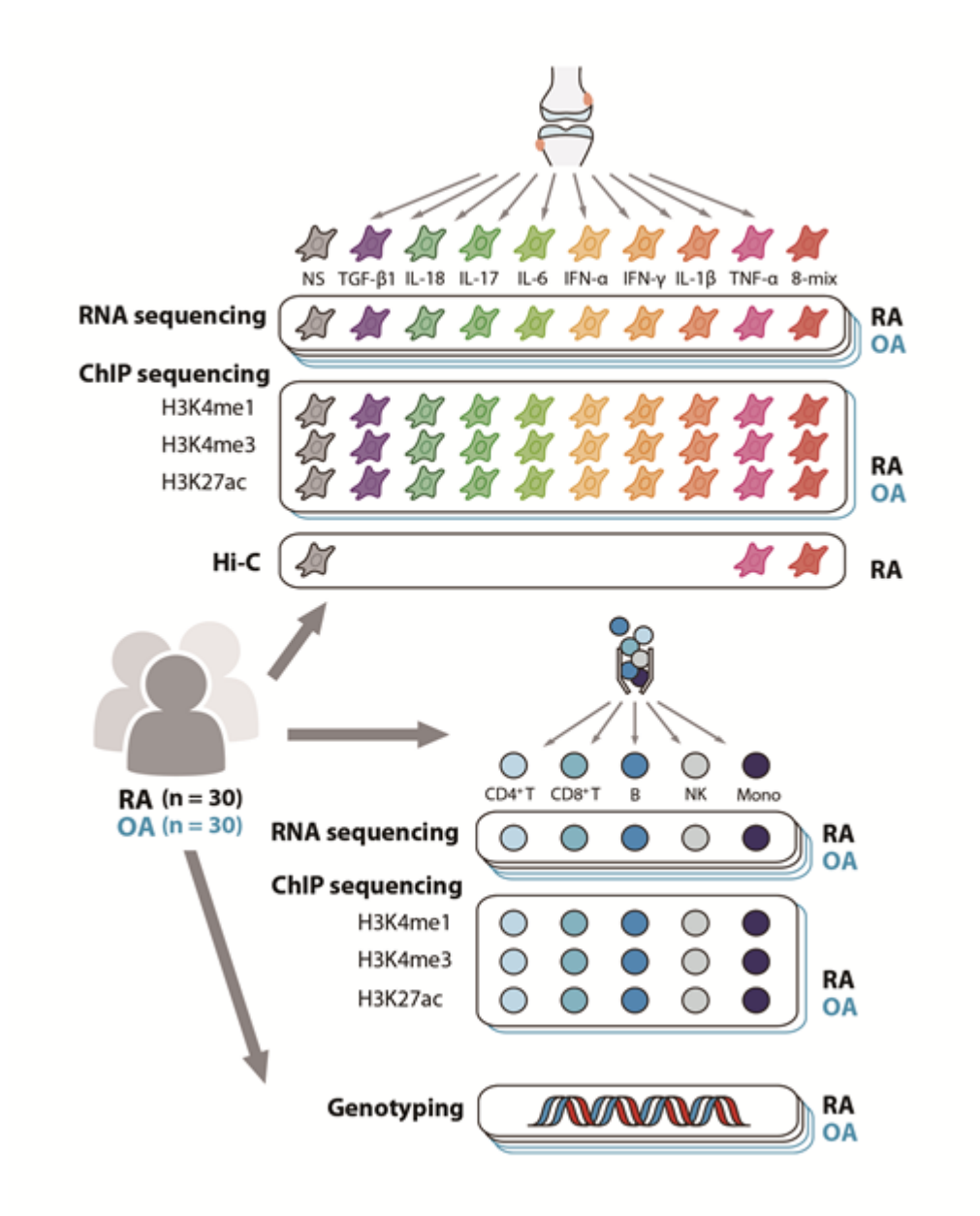


図 2. 本研究の基盤となるデータセット

本研究では、関節リウマチと変形性関節症（各 30 例）の滑膜から単離した滑膜線維芽細胞を、関節内の代表的な 8 種類のサイトカインと、関節内の複合的な炎症環境を模したこれら 8 種類の混合（8-mix）で刺激した。また、同じ患者の末梢血から、5 種類の主要な免疫細胞（CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、B 細胞、NK 細胞、単球）を分取した。

RA (rheumatoid arthritis; 関節リウマチ)、OA (osteoarthritis; 変形性関節症)

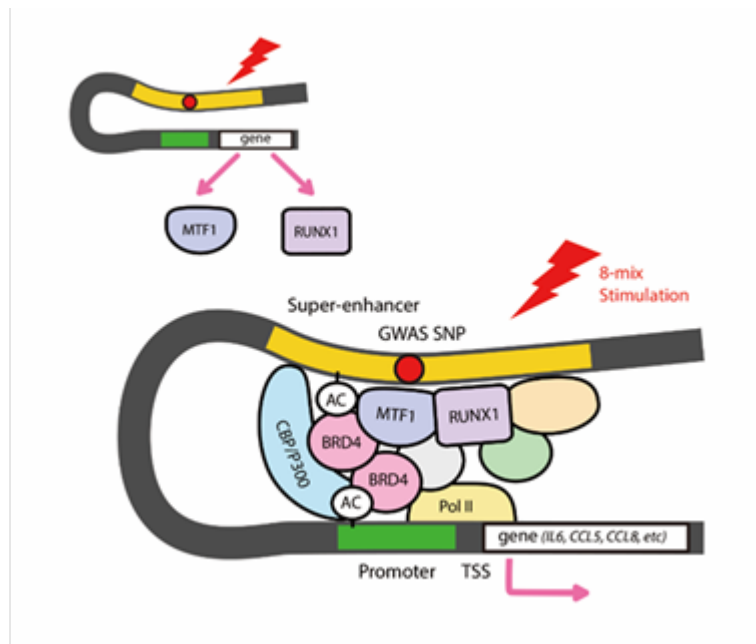


図 3. 複合的な炎症刺激を受けた滑膜線維芽細胞における病的なクロマチン構造の変化
 複合的な炎症環境下で、滑膜線維芽細胞はスーパーエンハンサー形成を伴うダイナミックなクロマチン構造の変化を起こし、これが関節リウマチの疾患感受性に関連する。MTF1 に代表される転写因子は、この病的な構造変化に重要である。