

高精度シングルセル解析を用いたループス腎炎の病態解明

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・学振特別研究員PD

中野 正博



全身性エリテマトーデス（SLE）は、免疫システムの異常によりさまざまな臓器が侵される難治性の自己免疫疾患です。なかでもループス腎炎は合併頻度の高い重症臓器病変ですが、多彩な免疫細胞が複雑に病態に関与するため、詳細な病態メカニズムは未だ解明されておらず、より良い治療薬の開発が切望されています。我々は、過去にSLE患者さん136人と対照健常人89人から採取した27種の免疫細胞の遺伝子発現解析（6,386サンプル）を世界に先駆けて実施し（Nakano M et al. Cell 2022）、その中でNon-classical monocyteという単球系の細胞種においてループス腎炎に特徴的な遺伝子発現パターンが存在することを報告しました。しかし同研究は既知の表面タンパク情報に頼って細胞種を定義し、これらの細胞種をひとまとめにして遺伝子発現情報を取得する「バルクRNA-sequencing研究」であったため、仮説に基づかない客観的な細胞集団の評価が不可能でした。

ループス腎炎の病態をより深く解明するためには、患者さんの血液中の免疫細胞を1細胞ずつ細かく解析することで（シングルセル解析）、その病態形成に関わる細胞集団（病原性細胞）を精密に同定し、それらの細胞が発現する遺伝子群とその働きを正確に評価する必要があります。今回我々は、SLE患者さん由来の公共シングルセルデータと新たな高精度シングルセルデータを詳細に解析することで、ループス腎炎の詳細な病態解明を試みました。

まず、我々は世界最大規模の公共シングルセルデータ（およそ1,300,000細胞、SLE 174人、対照健常人98人）を、最新のシングルセル解析技術を用いて詳細に解析しました。我々は「Metacell」と呼ばれるk近傍法に基づく細胞集約手法を用いて、同一の遺伝子プロファイルを有する10～20細胞の遺伝子発現情報を集約することで、シングルセルデータの最大の弱点である「1細胞あたりの情報量の少なさ」を克服し、血中の免疫細胞を91の詳細な細胞集団に分類することができました（図1）。本データを用いた元研究は、20程度の細胞種しか定義できていないため（Perez et al. Science 2022）、今回の手法によって極めて高精度の細胞集団を定義することができました。さらに、ここに「neighborhood abundance analysis」という解析手法を組み合わせることで、どの細胞集団が重症SLE患者さんで増多しているかを評価しました。今回我々は、Non-classical monocyteの一部の集団が活動性ループス腎炎を含む重症SLE患者さんで増多していることを初めて見出しました（図2-1）。これらの細胞集団は補体系という免疫経路に関わる遺伝子群を著しく高発現しており、ループス腎炎における単球の補体系シグナルの重要性が示されました。すなわち今回のシングルセル解析によって、Non-classical monocyteの中でも特に腎炎で病原性を有する可能性のある細胞集団を細かく絞り込むことができました。その他にも、HLA（ヒト白血球抗原）-DR関連遺伝子とGranzyme Kという細胞傷害性遺伝子を共発現する、非常に活性化したCD8陽性T細胞の集団がループス腎炎を含む重症SLE患者さんで増多していることも新たに確認されました（図2-2）。

これらの知見はループス腎炎の病態解明に大きなヒントを与える結果ではありますが、上記の公共シングルセルデータは数年前の古い技術で収集されたものであり、1細胞あたりの情報が極めて少な

いため、さらなる病態解明にはより充実したシングルセルデータを構築する必要がありました。そこで次に我々は、1細胞あたりの遺伝子発現情報に加えて表面タンパクの発現も評価できる最先端のシングルセル解析技術（CITE-seq）をループス腎炎患者さんの血液中の免疫細胞に新たに应用することで、今回同定したループス腎炎の病原性細胞を特徴づける表面タンパクや、これらの細胞集団がどのように腎炎を引き起こすのかを詳細に解析しているところです。

今回の研究結果をもとに、ループス腎炎の病原性細胞やその下流の免疫経路をターゲットとした新たな治療薬の開発などが期待でき、これによりSLE患者さんの治療予後の改善を目指したいと考えております。

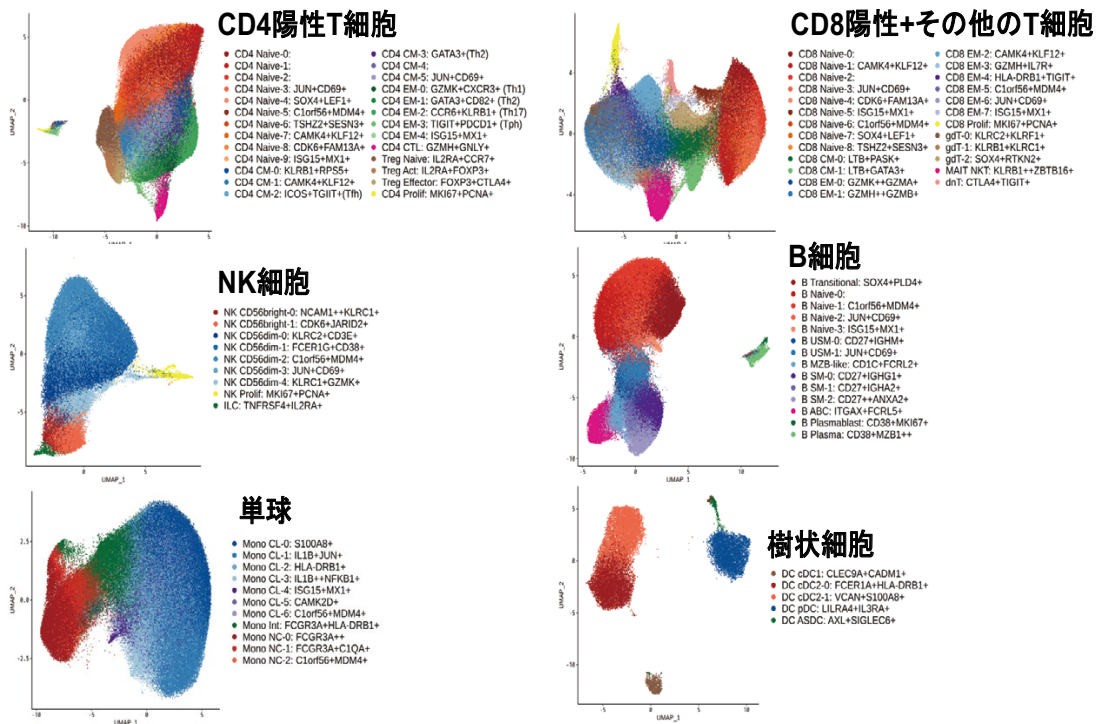


図1：SLE患者さんの血中免疫細胞における91の細胞集団

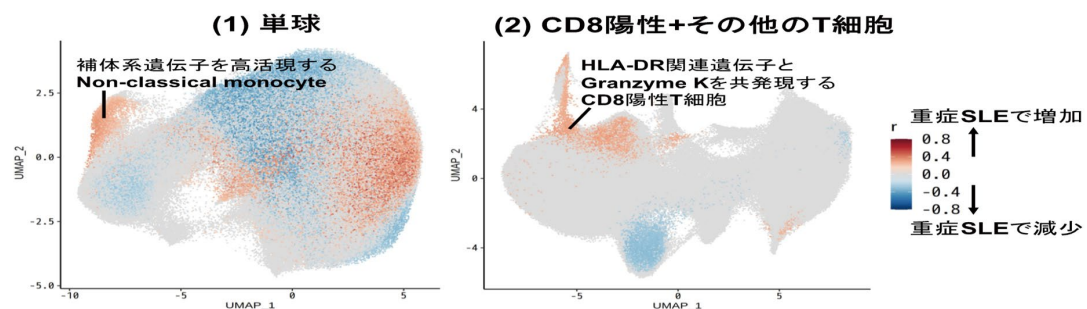


図2：ループス腎炎を含む重症SLE患者さんで増多、減少する細胞集団の同定