

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08436

研究課題名（和文）罹患組織の単細胞RNAシーケンス解析を起点としたIgG4関連疾患の病態の解明

研究課題名（英文）Pathophysiology analysis of IgG4-related disease using single-cell RNA sequence on affected tissue

研究代表者

池田 啓（Ikeda, Kei）

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：10456014

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではIgG4関連疾患（IgG4-RD）患者ならびにコントロール症例の顎下腺生検検体の非血球細胞の単細胞RNAseq解析を実施し、線維芽細胞を含む、複数のクラスターを同定した。IgG4-RDの線維芽細胞ではXV型コラーゲン遺伝子COL15A1の発現が上昇していた。COL15A1陽性線維芽細胞は特徴的な遺伝子発現パターンを示した。XV型コラーゲンは活動性の高いIgG4-RD患者の血清で上昇しており、治療により低下した。以上より、XV型コラーゲン発現線維芽細胞はIgG4-RDの病態を特徴づける非血球細胞であり、XV型コラーゲンはIgG4-RDの新規疾患活動性マーカーとなり得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgG4関連疾患の病態には不明な点が多く、本研究結果はIgG4関連疾患の免疫細胞から線維化に繋がるメカニズムの一端を解明した。また、IgG4関連疾患はグルココルチコイド依存性の経過を辿ることが多いが、本研究結果は病態に基づいた新規治療標的の同定に繋がる可能性があり、意義の大きな研究結果である。

研究成果の概要（英文）：We performed single-cell RNA sequence (scRNAseq) on non-immune cells of submandibular glands from IgG4-related disease (IgG4-RD) and control patients and identified clusters including fibroblasts. The expression of collagen type XV gene (COL15A1) was increased in IgG4-RD and COL15A1-positive fibroblasts showed a distinct gene-expression profile. The serum collagen type XV was elevated in active IgG4-RD patients and decreased after treatment. These results indicate that collagen type XV expressing fibroblasts represent a disease-characterizing non-immune cell population in IgG4-RD and hold potential as a disease-monitoring marker.

研究分野：リウマチ性疾患・膠原病

キーワード：IgG4関連疾患 顎下腺 単細胞RNAシーケンス 非血球細胞 線維芽細胞 XV型コラーゲン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) の病態は、罹患組織の IgG4 陽性形質細胞の浸潤と著明な線維化により特徴づけられる。これまで多くの病態関連研究が行われているが、末梢血の血球系細胞解析が中心のため IgG4-RD の免疫学的傾向を示すに留まり、罹患組織における IgG4 陽性形質細胞の浸潤から著明な線維化に至るまでの過程を説明する分子機構は解明されていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、IgG4-RD および対照疾患の罹患組織の非血球系細胞の単細胞 RNA-sequence (scRNA-seq) 解析を実施し、疾患特異的細胞分化と相互作用を解明するとともに、臨床情報との関連解析を行い、疾患特異的バイオマーカーを確立し、治療標的分子を同定することを目的とした。

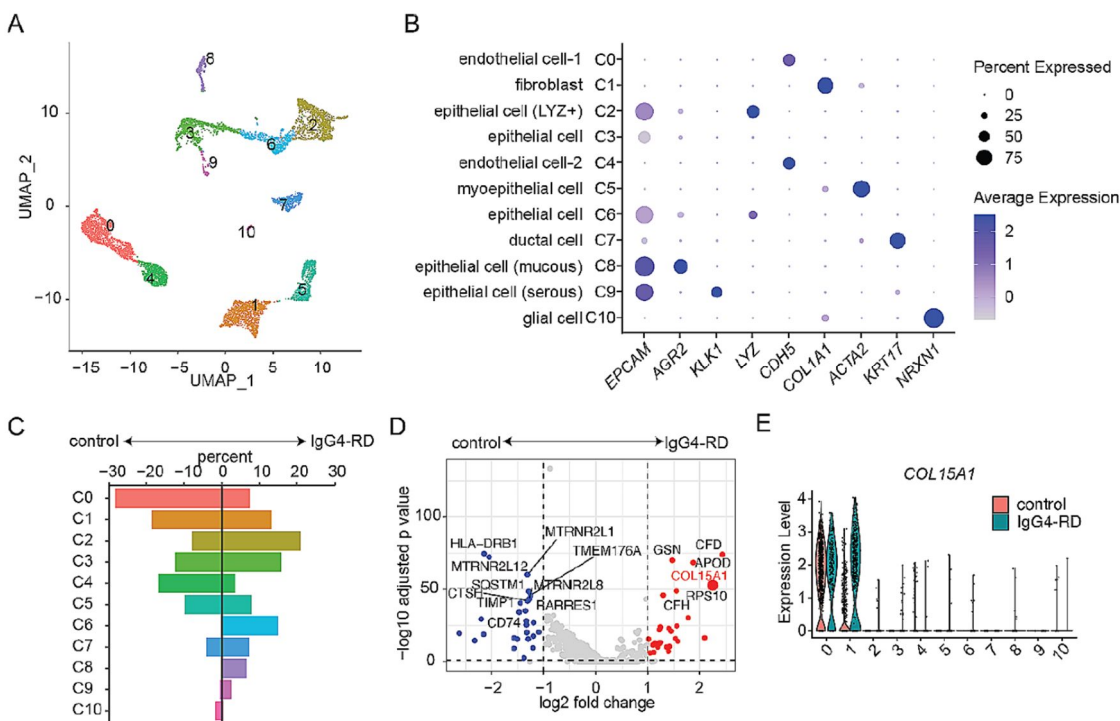
3. 研究の方法

本研究では IgG4-RD 患者 2 名の顎下腺生検検体および、顎下腺を外科摘出された非炎症性疾患患者 2 名の顎下腺検体において、非血球細胞を分離し、scRNA-seq を実施した。我々は XV 型コラーゲン発現線維芽細胞に注目し、免疫染色でその細胞集団の存在を確認した。また我々は健康者、活動性 IgG4-RD、非活動性 IgG4-RD の血清における XV 型コラーゲン濃度を解析した。

4. 研究成果

顎下腺組織の非血球系細胞の scRNAseq では、線維芽細胞、内皮細胞、腺細胞、および筋細胞を含む複数のクラスターが同定された (図 1A-C)。IgG4-RD で増加していた細胞集団の中で、我々は線維芽細胞に注目し、遺伝子発現解析を実施したところ、IgG4-RD では XV 型コラーゲン遺伝子 COL15A1 の発現が上昇していた (図 1D, E)。

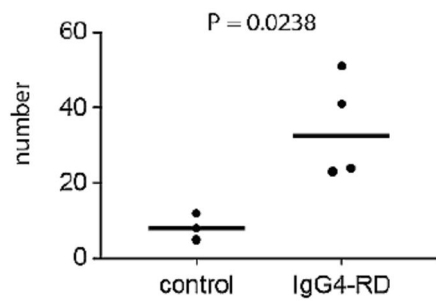
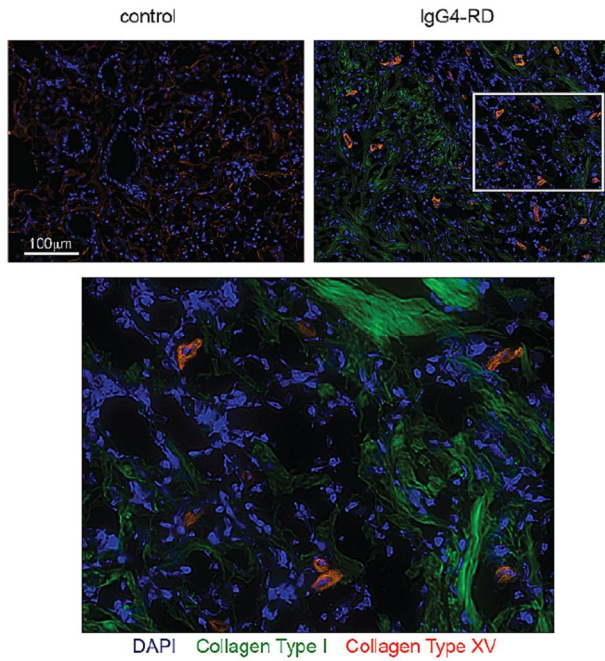
図 1. IgG4-RD とコントロールの顎下腺の非血球系細胞の scRNA-seq



A. UMAP により同定された 11 個のクラスター B. 各クラスターの予想される細胞群と特徴的な遺伝子発現 C. IgG4-RD とコントロールにおける各クラスターの割合 D. IgG4-RD とコントロールの線維芽細胞における遺伝子発現の相違 E. 各クラスターにおける COL15A1 の発現

組織免疫染色を実施したところ、やはり IgG4-RD では XV 型コラーゲン発現線維芽細胞が増加していた（図 2）。

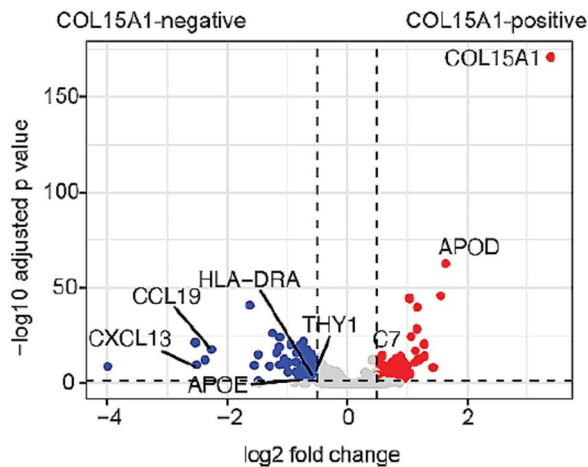
図 2. 顎下腺生検検体における XV 型コラーゲン発現線維芽細胞の免疫組織解析



上 IgG4-RD の代表的画像 下 XV 型コラーゲン陽性線維芽細胞の総数

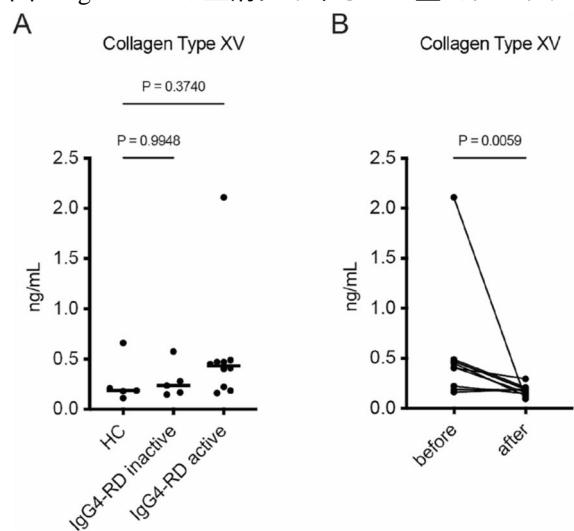
また、scRNAseq による顎下腺における線維芽細胞の遺伝子発現解析では、COL15A1 陽性線維芽細胞は APOD を高発現し、一方 COL15A1 陰性線維芽細胞は CXCL13 や CCL19 を高発現していた（図 3）。この結果より、XV 型コラーゲン発現線維芽細胞は異なる機能を有していることが示唆された。

図 3. scRNAseq による顎下腺における線維芽細胞の遺伝子発現解析



さらに、患者血清の解析では、XV型コラーゲンは活動性の高いIgG4-RD患者の血清で上昇しており、治療により低下した(図4A, B)。

図4. IgG4-RDの血清におけるXV型コラーゲン濃度



A. 健常者 (n=5)、非活動性 IgG4-RD (n=5)、ならびに活動性 IgG4-RD (n=10) B. 免疫抑制治療前後

以上より、XV型コラーゲン発現線維芽細胞はIgG4-RDの病態を特徴づける非血球細胞であることが示唆された。また、XV型コラーゲンはIgG4-RDの新規疾患活動性マーカーとなり得ることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 1. 著者名 Tanaka Shigeru, Yamamoto Takuya, Iwata Arifumi, Kiuchi Masahiro, Kokubo Kota, Iinuma Tomohisa, Sugiyama Takahiro, Hanazawa Toyoyuki, Hirahara Kiyoshi, Ikeda Kei, Nakajima Hiroshi | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Single-cell RNA sequencing of submandibular gland reveals collagen type XV-positive fibroblasts as a disease-characterizing cell population of IgG4-related disease | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy | 6. 最初と最後の頁 55 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13075-024-03289-7 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---------------------------------------------------|-------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 岩田 有史 (Iwata Arifumi) (90436353) | 千葉大学・大学院医学研究院・講師 (12501) | |
| 研究分担者 | 中島 裕史 (Hiroshi Nakajima) (00322024) | 千葉大学・大学院医学研究院・教授 (12501) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| | |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|