



Title	Single-cell analysis reveals immune cell abnormalities underlying the clinical heterogeneity of patients with systemic sclerosis
Author(s)	島上, 洋
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105695
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	島 上 洋
論文題名 Title	Single-cell analysis reveals immune cell abnormalities underlying the clinical heterogeneity of patients with systemic sclerosis（全身性強皮症の臨床的多様性の根底に存在する免疫異常を単一細胞解析によって解明する）
論文内容の要旨 〔目 的(Objective)〕 全身性強皮症の患者では皮膚症状に加え、多彩な臓器障害を認める。個々の患者に存在する臓器障害の組み合わせは多様であり、それぞれの重症度は同一患者内において合致するとは限らない。全身性強皮症患者における臨床的多様性の根底に存在する免疫細胞異常を明らかとすることを目的とし、本研究を行った。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 免疫抑制治療未施行であり、悪性腫瘍・活動性感染症・他の全身性自己免疫疾患のオーバーラップを認めない21名の全身性強皮症患者から末梢血単核球（PBMC）を採取した。年齢・性別の合致した健常者6名からもPBMCを取得、10x Chromiumを用い単一細胞レベルでトランスクリプトームおよび表面抗原を測定した。Rを用い、seuratの手法をベースとしてデータを解析した。SCTransform関数によって検出遺伝子数をノーマライゼーションした後、FindTransferAnchorsとIntegrateDataによって多検体データを統合した。各細胞集団の高発現遺伝子および抗原の情報から、それぞれを手動でアノテーションした。各種細胞亜集団の頻度を患者毎に集計し主成分分析を行ったところ、強皮症腎クリーゼ（SRC）と単球系細胞亜集団、間質性肺疾患（SSc-ILD）とリンパ球系細胞亜集団の関連が示唆された。 SRC患者の末梢血中単球をさらに詳細に解析し、ループス腎炎や顕微鏡的多発血管炎患者の検体から得た情報とも統合解析した結果、EGR1高発現のCD14⁺単球（CD14_EGR1）がSRCにおいて特異的に増加していることを見出した。この増加は抗RNA polymerase III抗体等の自己抗体ではなく、SRCの有無と関連した。また、単球EGR1の発現はSRCの病勢に合わせ増減した。そこで活動期SRC患者の腎組織と末梢白血球を採取しBD Rhapsodyにて単一細胞解析を実施、データを統合し、骨髓球系細胞についてMonocle 3を用い偽時間解析を行った結果、末梢血のCD14_EGR1が腎のTHBS1高発現マクロファージへと分化していると推測された。さらに、SRC患者3名および健常者3名より採取されホルマリン固定された保存腎組織について、CosMX spatial molecular imager systemを用い単一細胞レベルの空間トランスクリプトーム解析を実施した。その結果、SRC患者の腎組織ではTHBS1高発現のマクロファージが増加しており、パスウェイ解析から線維化関連経路の活性化した細胞サブセットであると考えられた。各細胞に近接して存在する細胞の種類と数を集計し、主成分分析によって近接細胞グループを同定したところ、THBS1高発現のマクロファージは、VCAM1など細胞障害マーカーが高発現の近位尿管細胞に近接して存在していることが判明した。 SSc-ILD患者の末梢血中リンパ球をさらに詳細に解析した結果、2型 interferon signature genes（T2ISG）が高発現のCD8⁺ effector memory T細胞（CD8_TEM_T2ISG）がSSc-ILD患者で有意に増加し、抗Scl-70抗体や抗RNA polymerase III抗体といったSSc-ILDの予後不良と関連する自己抗体が陽性の症例において特に顕著であることが判明した。この細胞サブセットではCXCR3やCCR5といった病変組織移行に関わるケモカイン受容体が高発現であり、組織移行性の亢進した細胞集団と推定された。SSc-ILDおよび健常者の肺組織を用いた公開単一細胞トランスクリプトームデータを入手し再解析した結果、SSc-ILD患者の肺組織ではT2ISGが高発現のCD8⁺T細胞の増加を認めた。 〔総 括(Conclusion)〕 PBMCの単一細胞解析から、全身性強皮症患者ではSRCやSSc-ILDといった特定の臓器障害の有無に応じた免疫細胞異常が存在することを見出した。SRC患者ではEGR1高発現の単球が病変腎組織へと移行し、線維化関連経路の活性化したマクロファージへと分化して、障害尿管組織を過剰に線維化させることにより難治性腎障害へ寄与していることが示唆された。単球のEGR1発現は、SRC発症の予測マーカーとなりうる。EGR1やTHBS1といった単球分化・組織線維化に関わる分子が、SRCに対する新たな治療標的となる可能性がある。SSc-ILDにおいては、インターフェロンγやケモカインの作用によるCD8⁺T細胞の病変肺組織への遊走が、病態の一部として存在するものと推測された。CXCR3などのケモカイン受容体およびそのリガンドは、SSc-ILDに対する新たな治療標的となる可能性がある。今後さらに多くの症例を対象として検討を行うとともに、疾患動物モデル等を用いた実験的検証によって、その意義をより明らかとしていく必要がある。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 島上 洋		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	保 山 通 毅
	副 査 大阪大学教授	竹 田 潔
	副 査 大阪大学教授	藤 本 孝

論文審査の結果の要旨

本研究では、未治療全身性強皮症（SSc）患者と健常者から末梢血単核球を採取し、単一細胞レベルの全遺伝子発現を測定した。その結果、強皮症腎クリーゼ（SRC）やSSc関連間質性肺疾患（SSc-ILD）といった臓器合併症を伴う患者に他のSSc患者とは異なる免疫細胞の遺伝子発現変化が存在することを示した。特にSRCはEGR1高発現CD14陽性単球（CD14_EGR1）の増加で特徴付けられた。SRC患者由来腎組織との統合解析により、CD14_EGR1は腎のTHBS1高発現マクロファージ（THBS1_Mac）へと分化していることが示唆された。さらに細胞位置情報を維持した空間トランスクリプトーム解析により、このTHBS1_Macが障害近位尿細管細胞の周囲へと集積し、線維化ニッチを形成している可能性が示された。SSc-ILD患者では2型インターフェロン関連遺伝子が高発現のCD8陽性 effector memory細胞が末梢血中で増加し、病変肺組織へ遊走していることが示唆された。上記結果はSScの臨床的多様性の背景にある免疫異常の一端を明らかにしたものであり、特にSRCの病態における骨髓球系の関与を示唆する点で興味深く、博士（医学）の学位授与に値する。