

組織破壊型の線維芽細胞をつくる遺伝子 ETS1 の同定

——関節リウマチ、がん、腸炎など、線維芽細胞が関わる疾患の治療に道——

1. 発表者：

Yan Minglu（日本学術振興会 外国人特別研究員）

小松 紀子（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学講座 助教）

塚崎 雅之（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学講座 特任助教）

高柳 広（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学講座 教授）

2. 発表のポイント：

◆組織破壊型の線維芽細胞がつくられる仕組みを世界で初めて明らかにしました。

◆関節リウマチの骨破壊を誘導する、組織破壊型の滑膜線維芽細胞をつくるもととなる遺伝子 ETS1 を同定し、滑膜線維芽細胞の ETS1 を欠損させると関節炎の骨と軟骨の破壊が共に抑制されることを明らかにしました。

◆関節リウマチだけでなく、腸炎やがんなどをはじめとするさまざまな疾患において、組織破壊型の線維芽細胞に基づく病態の理解と新しい治療法の開発に大きく貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

線維芽細胞は、これまで単に体を構成する足場として働く細胞と考えられてきましたが、近年の解析技術の進歩により、病気の組織には組織破壊型や炎症型などの悪玉タイプの線維芽細胞が存在し、関節リウマチ（注1）をはじめとする多くの疾患をひきおこすことが明らかになりつつあります。東京大学大学院医学系研究科 免疫学講座の高柳 広 教授らの研究グループは、関節リウマチにおいて滑膜線維芽細胞（注2）は炎症を誘導するだけでなく、破骨細胞（注3）誘導因子 RANKL（注4）を産生するおもな細胞として骨破壊を誘導することを報告してきました。しかしながら骨破壊を誘導する、組織破壊型の滑膜線維芽細胞をつくるもとになる遺伝子はみつかっていませんでした。

今回、高柳教授らは、滑膜線維芽細胞において RANKL や軟骨を破壊するたんぱく質の発現を誘導する主要な遺伝子として ETS1 を同定しました。滑膜線維芽細胞のみ ETS1 を欠損させたマウスを新たに作製し、関節炎を誘導すると炎症には影響がないものの骨と軟骨の破壊が共に抑制されたことから、ETS1 が骨・軟骨を破壊する組織破壊型の滑膜線維芽細胞の機能や運命決定を司る遺伝子であることが明らかとなりました。さらに ETS1 は関節リウマチだけでなく腸炎やがんの病態形成に関わる組織破壊型の線維芽細胞のサブセットにも高く発現しており、組織破壊型の線維芽細胞の形成を通じてさまざまな疾患に関わる可能性が示唆されました。これらの研究成果は組織破壊型の線維芽細胞を標的とした治療法の開発に大きく貢献するものと期待されます。

本研究は、日本学術振興会 科学研究費補助金（15H05703、21H05046、21H03104、22H02844、20K21515、19J21942、22F22108）や、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）免疫アレルギー疾患実用化研究事業における研究開発課題「関節リウマチの病原性

間葉系細胞サブセットを標的とした骨破壊治療法の開発」(研究開発代表者:高柳 広)、革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) 「生体組織の適応・修復機構の時空間的解析による生命現象の理解と医療技術シーズの創出」研究開発領域における研究開発課題「組織修復型免疫細胞の解明とその制御による疾患治療の開発」(研究開発代表者:高柳 広)などの支援を受けて行われました。本研究成果は、2022年8月23日(米国東部夏時間)に *Nature Immunology* のオンライン版に掲載されました。

4. 発表内容:

【研究の背景】

線維芽細胞は、最も豊富に存在する、体の構造を支持する細胞のひとつであり、組織の恒常性を保つ役割を果たす細胞です。近年の解析技術の進展により、病気の組織には炎症型や組織破壊型などのさまざまな機能を有する線維芽細胞が存在し、関節リウマチや腸炎、がんなどをはじめとする病態の形成を担うことが明らかになりつつあります。関節リウマチは関節の炎症に伴って骨や軟骨の破壊が誘導される最も頻度の高い自己免疫疾患の一つです。関節リウマチでは関節腔を包む滑膜に滑膜線維芽細胞や免疫細胞が集積し増殖や活性化することで炎症の場を形成します。滑膜線維芽細胞は関節の滑膜に特異的に存在する線維芽細胞で、これまでにわれわれは滑膜線維芽細胞が主要な RANKL 発現細胞として骨破壊に重要な役割を果たすことを見出しています。近年滑膜線維芽細胞には炎症を誘導する炎症誘導型と骨破壊を誘導する組織破壊型が存在することが明らかにされ注目を集めていますが、どのような分子メカニズムで生じるのかは分かっていませんでした。また RANKL のはたらきを抑制する抗 RANKL 抗体は関節リウマチの骨破壊を抑制する薬剤として本邦で適用されていますが、軟骨破壊を抑制することはできないという問題点がありました。健常人においても常に骨破壊と骨形成がおきて骨の新陳代謝がなされることを鑑みて、関節リウマチの病的な骨破壊と軟骨破壊を同時に抑制する画期的な薬剤の開発が求められていました。

【研究成果の概要】

われわれは滑膜線維芽細胞が RANKL を発現するしくみに着目し、関節リウマチ患者の滑膜線維芽細胞のエピゲノム解析(注5)により RANKL 発現に関わる可能性のある遺伝子発現制御領域を複数同定しました。これらの遺伝子領域を欠損させたマウスを複数作製し、特定の遺伝子領域(E3)を欠損させたマウスから単離した滑膜線維芽細胞では RANKL の発現が抑制されること、E3 欠損マウスに関節炎を誘導すると骨破壊が抑制されることを見出しました。さらに E3 に結合する転写因子として ETS1 を同定し、遺伝子発現解析により ETS1 が E3 に結合して RANKL だけでなく軟骨破壊をひきおこす細胞外基質分解酵素の発現も誘導することを明らかにしました。滑膜線維芽細胞が発現する ETS1 の関節リウマチにおける役割を明らかにするため、滑膜線維芽細胞特異的に ETS1 を欠損させたマウスを新たに作製し関節炎を誘導すると、炎症には影響がない一方で、骨と軟骨の破壊が共に抑制されることがわかりました。以上の結果から、関節リウマチにおいては ETS1 が骨や軟骨を破壊する滑膜線維芽細胞を形成する鍵となる遺伝子であることがわかりました。

組織破壊型の線維芽細胞は関節リウマチだけでなく、腸炎やがんなどさまざまな病態においても存在し、病態形成に重要であることが知られています。シングルセル解析(注6)の結果、興味深いことに、ETS1 は腸炎やがんにおいて組織破壊やリモデリングに関わる線維芽細胞のサブセットに高く発現する一方で炎症を誘導するサブセットには認められないことがわかりました。線維芽細胞特異的に ETS1 を欠損させたマウスに腸炎を誘導すると、炎症には影響

がないものの、粘膜下層や筋層の組織修復に異常が認められたことから、ETS1 を発現する線維芽細胞は組織の再構築や修復に寄与することが分かりました。またエピゲノム解析により、ETS1 の発現は炎症性サイトカインである TNF や低酸素環境下で誘導される因子によって誘導されることが分かりました。このことから ETS1 の発現は病態において局所的に制御されており、組織破壊性の線維芽細胞の形成を介して、様々な疾患の病態を引き起こすことが示唆されました。

【研究成果の意義】

本研究により関節リウマチにおいて骨・軟骨の破壊を誘導する滑膜線維芽細胞の病原性や運命を司る重要な転写因子として ETS1 を同定し、組織破壊型の線維芽細胞がつくられる分子メカニズムを初めて明らかにすることに成功しました。滑膜線維芽細胞の ETS1 の発現や活性を抑制することで滑膜線維芽細胞を標的とした関節リウマチの骨と軟骨破壊を同時に抑制する新しい治療法の開発に繋がるものと期待されます。さらに ETS1 は関節リウマチだけでなく腸炎やがんなどさまざまな病態における組織破壊性の線維芽細胞に高く発現しており、組織破壊型の線維芽細胞サブセットの病原性の発揮や運命決定が ETS1 を基軸とした遺伝子発現制御によって担われることが示唆されました。本研究は組織破壊型の線維芽細胞に基づく病態の理解と新しい治療法の開発に大きく貢献するものと期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Nature Immunology」（オンライン版：8月23日）

論文タイトル： ETS1 governs pathological tissue remodeling programs in disease-associated fibroblasts.

著者： Minglu Yan, Noriko Komatsu, Ryunosuke Muro, Nam Cong-Nhat Huynh, Yoshihiko Tomofuji, Yukinori Okada, Hiroshi I. Suzuki, Hiroyuki Takaba, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa, Warunee Pluemsakunthai, Yuichi Mitsui, Takashi Satoh, Tadashi Okamura, Takeshi Nitta, Sin-Hyeog Im, Chan Johng Kim, George Kollias, Sakae Tanaka, Kazuo Okamoto, Masayuki Tsukasaki and Hiroshi Takayanagi*

DOI 番号： 10.1038/s41590-022-01285-0

アブストラクト URL： <https://www.nature.com/articles/s41590-022-01285-0>

6. 問い合わせ先：

<研究に関すること>

東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学講座

教授 高柳 広（たかやなぎ ひろし）

TEL：03-5841-3373

FAX：03-5841-3450

E-mail：takayana@m.u-tokyo.ac.jp

<AMED 事業に関すること>

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

疾患基礎研究事業部 疾患基礎研究課

免疫アレルギー疾患実用化研究事業

TEL：03-6870-2286

7. 用語解説 :

(注 1) 関節リウマチ

関節を中心とした持続的な炎症と骨破壊をおもな症状とする自己免疫疾患の一つ。関節の炎症滑膜には滑膜線維芽細胞や免疫細胞の集積と活性化が認められる。免疫抑制薬であるメトトレキサートが治療の第一選択薬であり、効果が低い場合は炎症性サイトカインなどを標的とした生物学的製剤が使用される。生物学的製剤は関節リウマチの炎症の抑制などを介して関節破壊の進行に対しても抑制効果をもつが治療抵抗性の患者も一定割合存在する。

(注 2-1) 滑膜

関節腔の内側を覆う膜であり、関節リウマチでは滑膜中の滑膜線維芽細胞や免疫細胞が増殖、活性化して炎症が誘導される。肥厚した炎症滑膜と骨の境界には多数の破骨細胞が存在し、骨破壊が誘導される。

(注 2-2) 滑膜線維芽細胞

関節の滑膜に存在する線維芽細胞。線維芽細胞は間葉系細胞（結合組織や筋肉、脂肪などを構成する非上皮系の細胞）の一種である。関節リウマチの炎症滑膜のおもな構成細胞のひとつで、炎症環境下において免疫細胞と相互作用して活性化・増殖し、炎症性サイトカインや RANKL の発現が高く誘導されることで関節リウマチの関節の炎症や骨破壊を増悪化する。

(注 3) 破骨細胞

血球系の細胞である破骨細胞の前駆細胞が RANKL 刺激を受けることで分化した、生体において骨破壊を担う唯一の細胞である。骨表面に接着し、タンパク質分解酵素と酸を放出することで骨基質を分解する。骨の恒常性は、破骨細胞による骨破壊と、骨芽細胞や骨細胞による骨形成の均衡により維持されている。

(注 4) RANKL

Receptor activator of NF- κ B ligand の略で、破骨細胞の分化を誘導するタンパク質であり、生体内の破骨細胞形成に必須である。リンパ節や胸腺などの免疫組織の形成においても必須な役割をもつ。RANKL 遺伝子を欠損するマウスでは破骨細胞ができないため骨破壊がおこらず大理石骨病が発症する。定常時の骨組織においては骨芽細胞や骨細胞（骨芽細胞から分化し骨に埋没した細胞）が RANKL を発現することで破骨細胞を形成する。抗 RANKL 抗体製剤は関節リウマチに伴う関節破壊の進行を抑制する薬剤として本邦で承認されている。

(注 5) エピゲノム解析

ゲノム配列上に、環境の変化などによって後天的に加えられた、DNA のメチル化やヒストンタンパク質の修飾のメチル化やアセチル化などの「修飾」の総称をエピゲノムといい、遺伝子発現の調節などに大きな役割を担う。エピゲノム解析はエピゲノムの情報を調べる解析を指す。

(注 6) シングルセル解析

単離した細胞をシングルセル（1細胞）毎に全遺伝子の発現量を定量的に解析する手法で、細胞の多様性や不均一性を調べるのに有効である。

8. 添付資料：

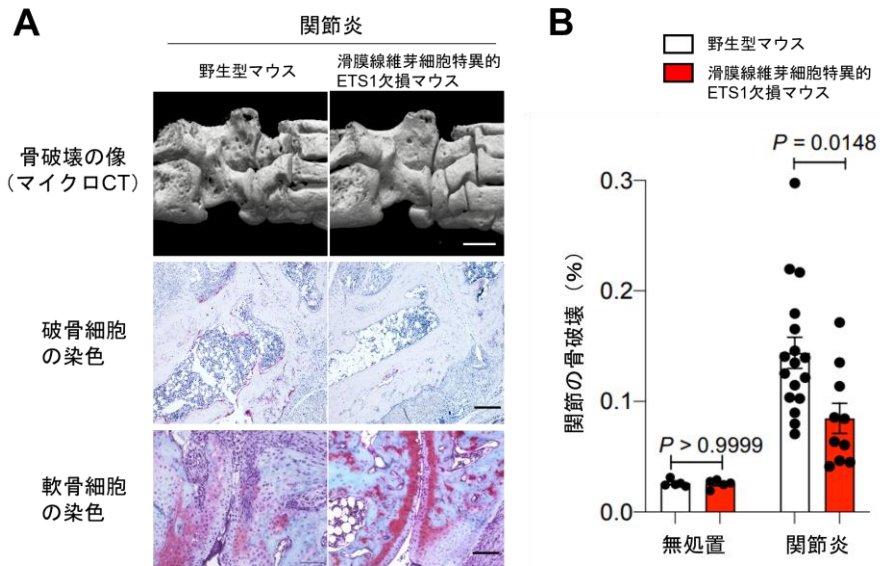


図1 滑膜線維芽細胞における ETS1 の発現が、関節炎の骨・軟骨の破壊に重要である

- A 野生型マウスに関節炎を誘導すると、炎症関節において、骨破壊（上）、破骨細胞の形成（中；破骨細胞を赤で示す）、軟骨の破壊（下；軟骨基質を赤で示す）が認められるが、滑膜線維芽細胞に ETS1 を発現しないマウスでは骨・軟骨の破壊が抑制された。
- B 関節の骨破壊を定量化したグラフ（白；野生型マウス、赤；滑膜線維芽細胞特異的 ETS1 欠損マウス）。