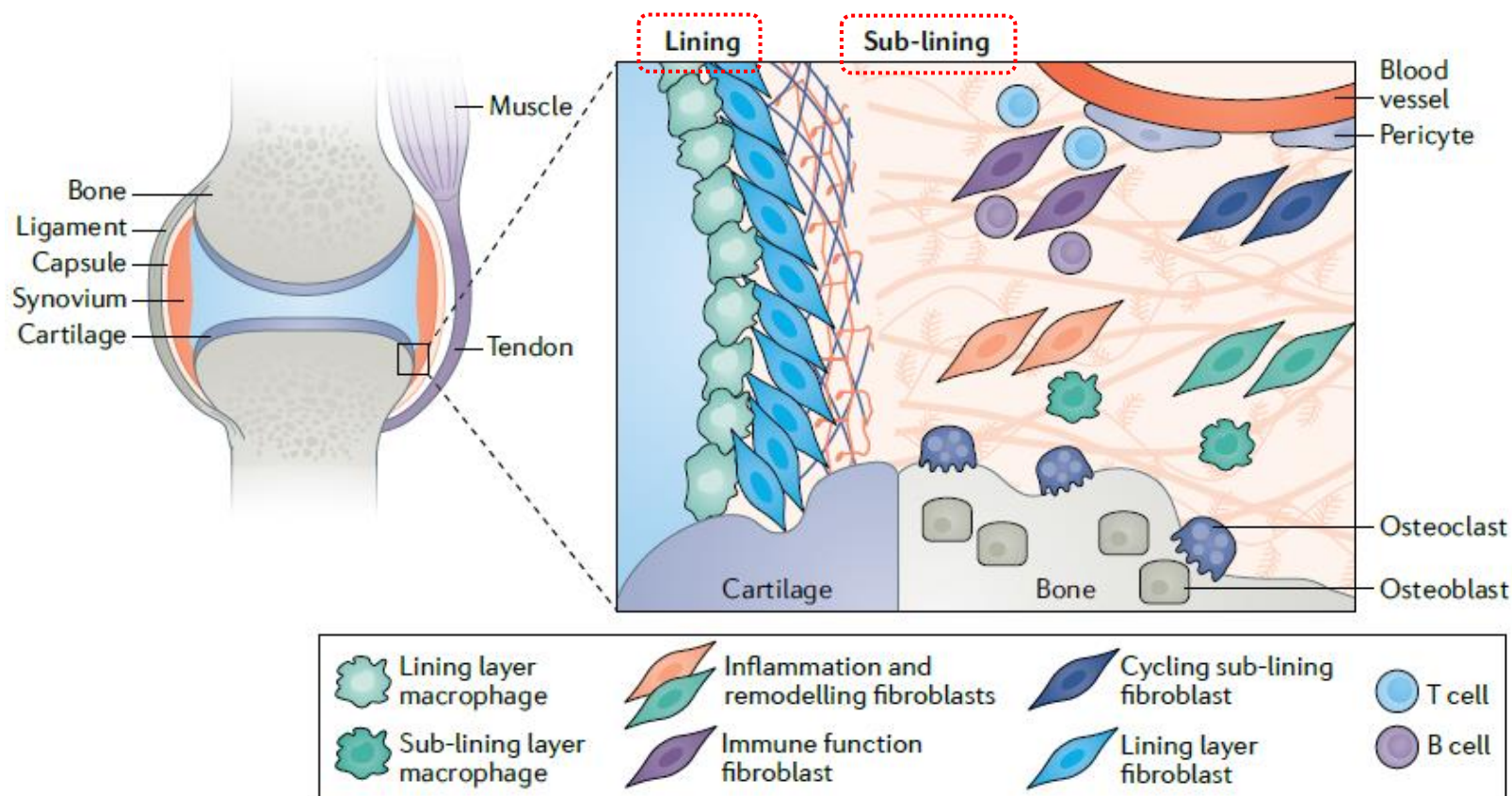


# Deconstruction of rheumatoid arthritis synovium defines inflammatory subtypes

Fan Zhang<sup>1,2,3,4,5,6,39</sup>, Anna Helena Jonsson<sup>1,38,39</sup>, Aparna Nathan<sup>1,2,3,4,5,39</sup>, Nghia Millard<sup>1,2,3,4,5,39</sup>, Michelle Curtis<sup>1,2,3,4,5</sup>, Qian Xiao<sup>1,2,3,4,5</sup>, Maria Gutierrez-Arcelus<sup>1,2,3,4,5,7</sup>, William Apruzzese<sup>8</sup>, Gerald F. M. Watts<sup>1</sup>, Dana Weisenfeld<sup>1</sup>, Saba Nayar<sup>9,10</sup>, Javier Rangel-Moreno<sup>11</sup>, Nida Meednu<sup>11</sup>, Kathryn E. Marks<sup>1</sup>, Ian Mantel<sup>12,13</sup>, Joyce B. Kang<sup>1,2,3,4,5</sup>, Laurie Rumker<sup>1,2,3,4,5</sup>, Joseph Mears<sup>1,2,3,4,5</sup>, Kamil Slowikowski<sup>4,5,14</sup>, Kathryn Weinand<sup>1,2,3,4,5</sup>, Dana E. Orange<sup>12,15</sup>, Laura Geraldino-Pardilla<sup>16</sup>, Kevin D. Deane<sup>17</sup>, Darren Tabechian<sup>11</sup>, Arnoldas Ceponis<sup>18</sup>, Gary S. Firestein<sup>18</sup>, Mark Maybury<sup>9,19</sup>, Ilfiti Sahbudin<sup>9,19</sup>, Ami Ben-Artzi<sup>20</sup>, Arthur M. Mandelin II<sup>21</sup>, Alessandra Nerviani<sup>22,23</sup>, Myles J. Lewis<sup>22,23</sup>, Felice Rivellesse<sup>22,23</sup>, Costantino Pitzalis<sup>22,23,24</sup>, Laura B. Hughes<sup>25</sup>, Diane Horowitz<sup>26</sup>, Edward DiCarlo<sup>27</sup>, Ellen M. Gravallesse<sup>1</sup>, Brendan F. Boyce<sup>28</sup>, Accelerating Medicines Partnership: RA/SLE Network\*, Larry W. Moreland<sup>17,29</sup>, Susan M. Goodman<sup>12,13</sup>, Harris Perlman<sup>21</sup>, V. Michael Holers<sup>17</sup>, Katherine P. Liao<sup>1,4</sup>, Andrew Filer<sup>9,10,19</sup>, Vivian P. Bykerk<sup>12,13</sup>, Kevin Wei<sup>1,40</sup>, Deepak A. Rao<sup>1,40</sup>, Laura T. Donlin<sup>12,13,40</sup>, Jennifer H. Anolik<sup>11,40</sup>, Michael B. Brenner<sup>1,40</sup> & Soumya Raychaudhuri<sup>1,2,3,4,5,40</sup> ✉

[Zhang F, et al. Nature. 2023;623(7987):616-624.]

# 関節リウマチの炎症の主座：滑膜組織

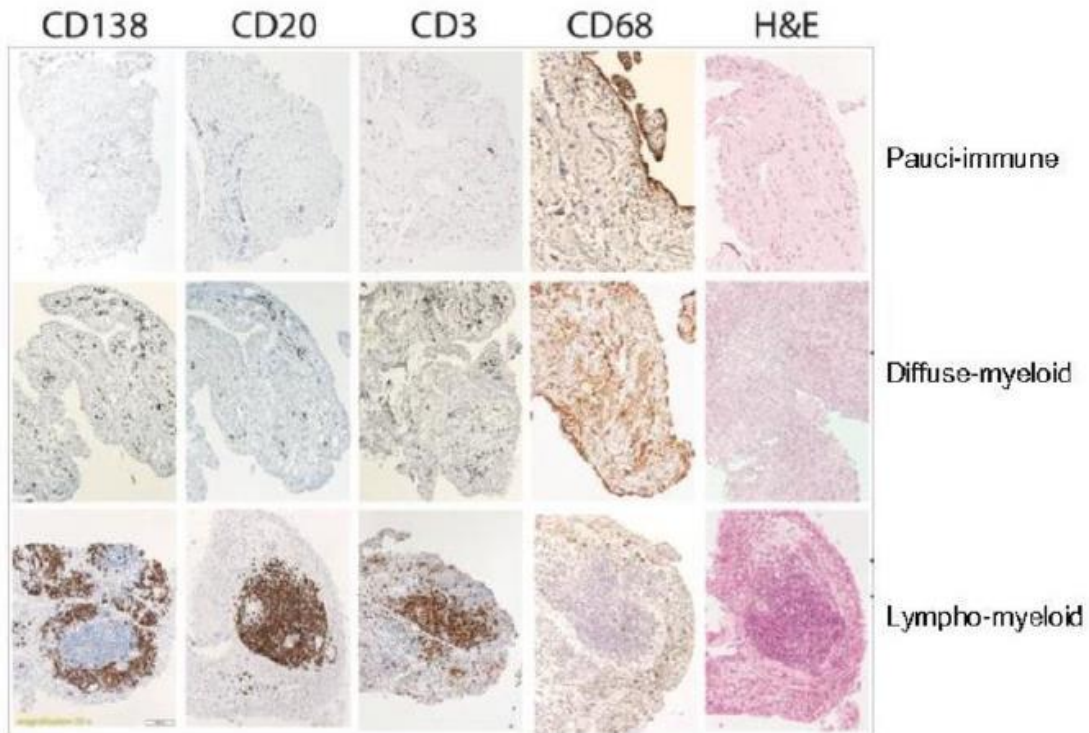


[Buckley CD, et al. Nat Rev Rheumatol. 2021;17(4):195-212.]

- **Synovial fibroblast (SF)**：炎症滑膜の主要な構成因子. 増殖し骨・軟骨に浸潤する
- **Lining**：正常は1-3層, RAで10-20層に増大する. SF, M $\phi$ , 有孔基底膜で構成される. **THY1陰性 SF**が多く, 軟骨・骨破壊に関連する.
- **Sub-lining**：SF, M $\phi$ , ECMで構成. 血管形成と栄養・リンパ球の出入りに寄与する. **THY1陽性炎症性SF分画**はRAで多く, sub-liningにあり, NOTCH3を介し増殖する.

# 滑膜生検で治療反応性, Xp予後を予測する

[Humby F, et al. Ann Rheum Dis. 2019;78(6):761-72.]



- 滑膜生検で病型分類

1. Lympho-myeloid群：B細胞主体
2. Diffuse-myeloid群：骨髄細胞主体だがB細胞は乏しい
3. Pauci-immune群：間葉系細胞のみ、免疫細胞は乏しい

- Pauci-immune群では、疾患活動性やX線進行が軽度だった。

# 滑膜B細胞評価は病理よりRNA-seqが正確

[Humby F, et al. Lancet. 2021;397(10271):305-17.]

## B-cell poor群

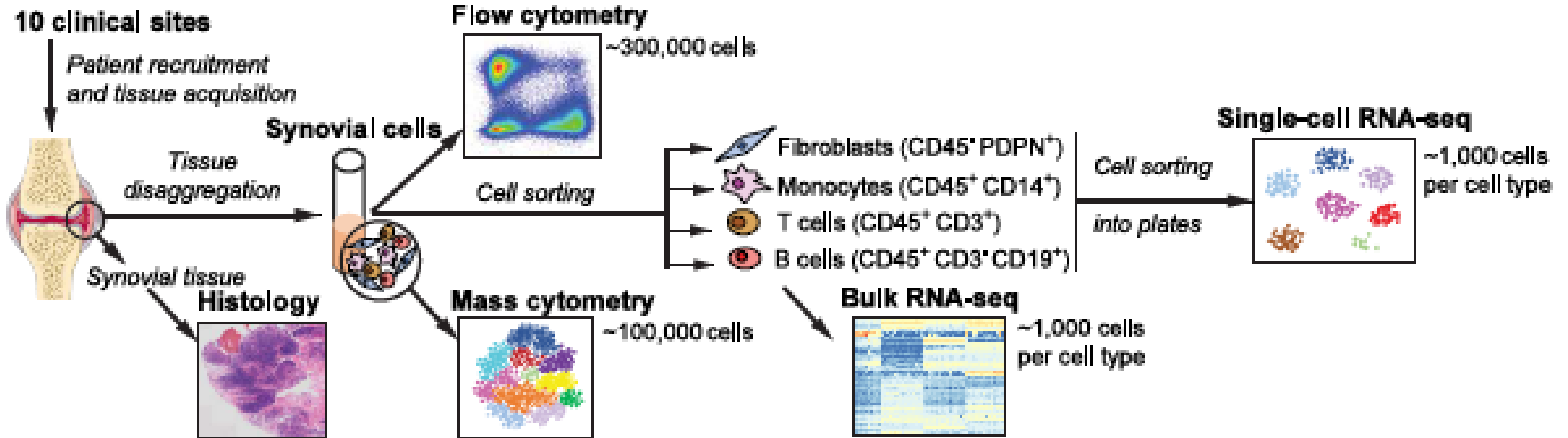
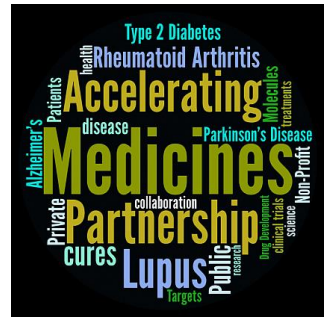
	Histological classification				RNA sequencing classification			
	Rituximab (n=38)	Tocilizumab (n=41)	Treatment effect	Unadjusted p value	Rituximab (n=33)	Tocilizumab (n=32)	Treatment effect	Unadjusted p value
Primary endpoint*								
CDAI $\geq$ 50% improvement at week 16	17 (45%)	23 (56%)	11% (-11 to 33)	0.31	12 (36%)	20 (63%)	26% (3 to 50)	0.035

## B-cell rich群

	Histological classification				RNA sequencing classification			
	Rituximab (n=33)	Tocilizumab (n=31)	Treatment effect	Unadjusted p value	Rituximab (n=30)	Tocilizumab (n=29)	Treatment effect	Unadjusted p value
Primary endpoint*								
CDAI $\geq$ 50% improvement at week 16	13 (39%)	16 (52%)	12% (-12 to 37)	0.33	15 (50%)	14 (48%)	-2% (-27 to 24)	0.89

- 滑膜組織生検もしくはRNA-seqでB-cell poor か richを診断
- 治療はランダムに振り分ける (n=161人, R4RA試験)
- B-cell rich群のRTX有効率がB-cell poor群より高い。
- RNA-seqの方が病理診断よりも治療効果との関連性が高い。

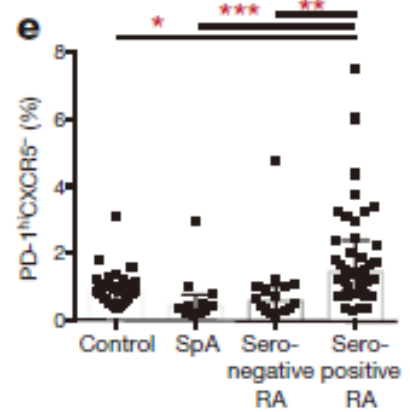
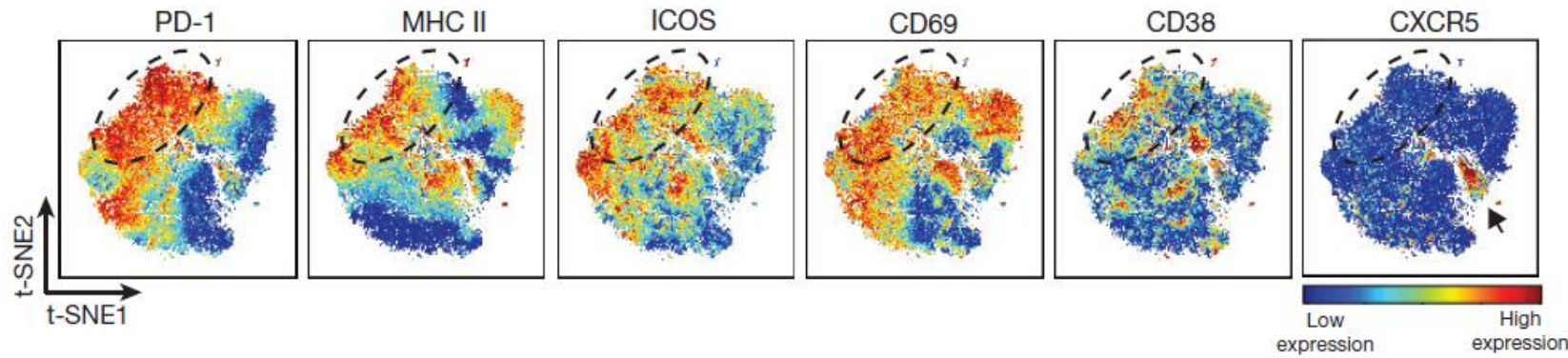
# Accelerating Medicines Partnership (AMP)



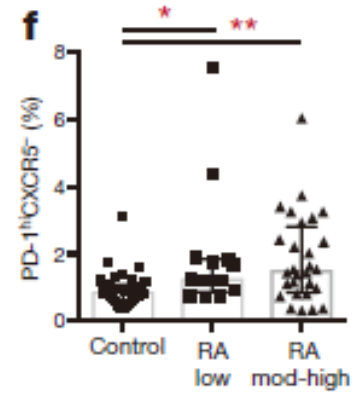
- NIH, FDA, 企業, NPOが参画し, 診断や治療の向上を目指した取り組み (2014年~)
- 対象疾患 : RA, SLE, Alzheimer's disease, Type 2 DM

# Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis

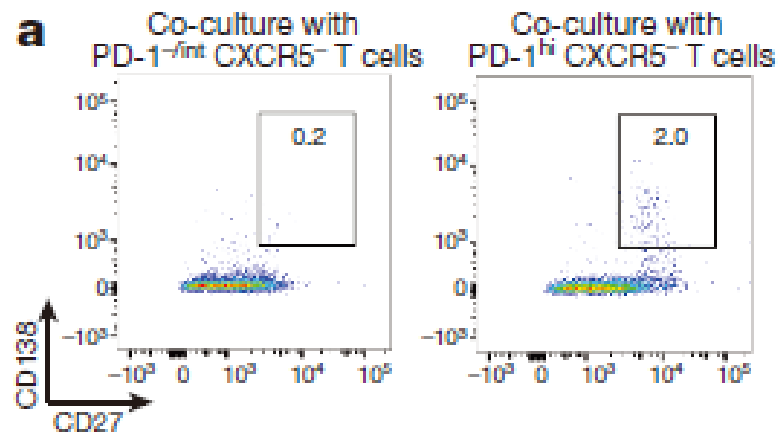
[Rao DA, et al. Nature. 2017; 542(7639): 110-14.]



Seropositive RAの末梢血でもTphを認める



MDA-HADのRAの末梢血でTphが多い



TphはTfhよりB細胞成熟を促す能力が高い

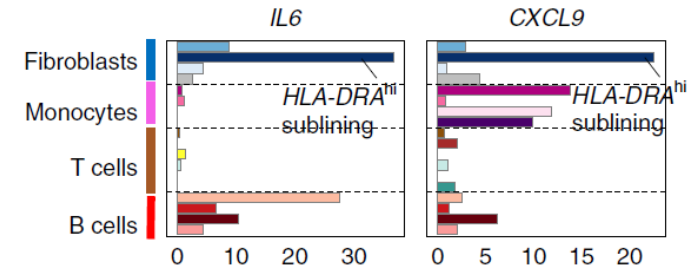
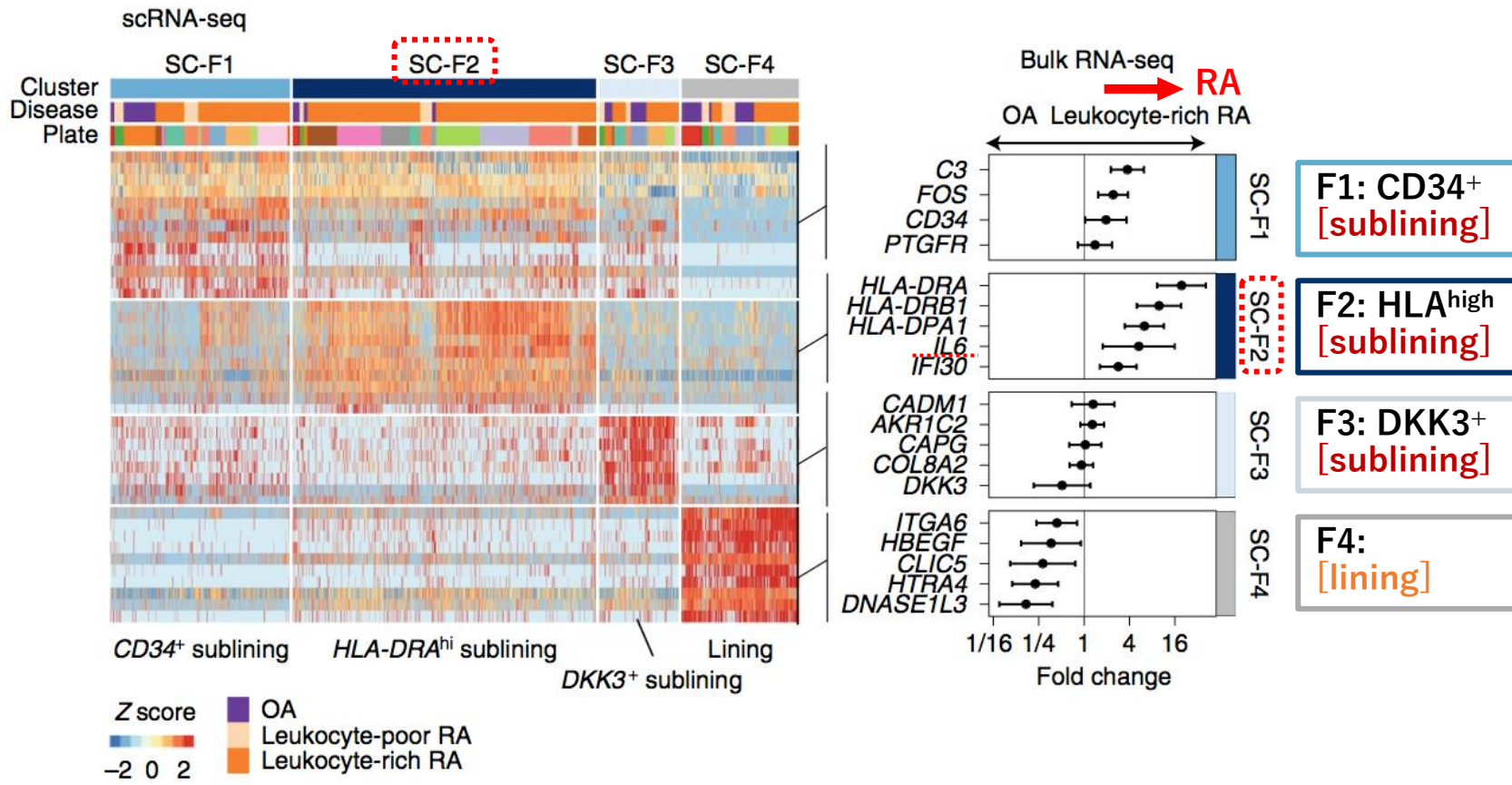
- RA滑膜組織で著しく増加する新規細胞集団Tphを同定.
- **Tph (T peripheral helper cell)** PD1高発現, CXCR5陰性TがRA滑膜内に存在
- Tfhと同様にB細胞を誘引するcytokine/chemokineを産生 (IL-21, CXCL13) し, Plasma cell分化とIgG産生を促す.
- Tfhと異なり, 炎症部位への遊走能がある.
- RAにおける, 非リンパ系組織でのB細胞応答を説明できる.

# Defining inflammatory cell states in rheumatoid arthritis joint synovial tissues by integrating single-cell transcriptomics and mass cytometry

[Zhang F, et al. Nat Immunol. 2019;20(7):928-42.]

- SFはtranscriptome levelで4つのFractionに分かれる

- Fraction 1-3: Sublining (THY1+)
- Fraction 4: Lining (THY1-)
- Fraction 2 (THY1+HLA-DRA<sup>hi</sup>) CXCL9, IL6 high producer. RA(Leukocyte-rich)で有意に多い.

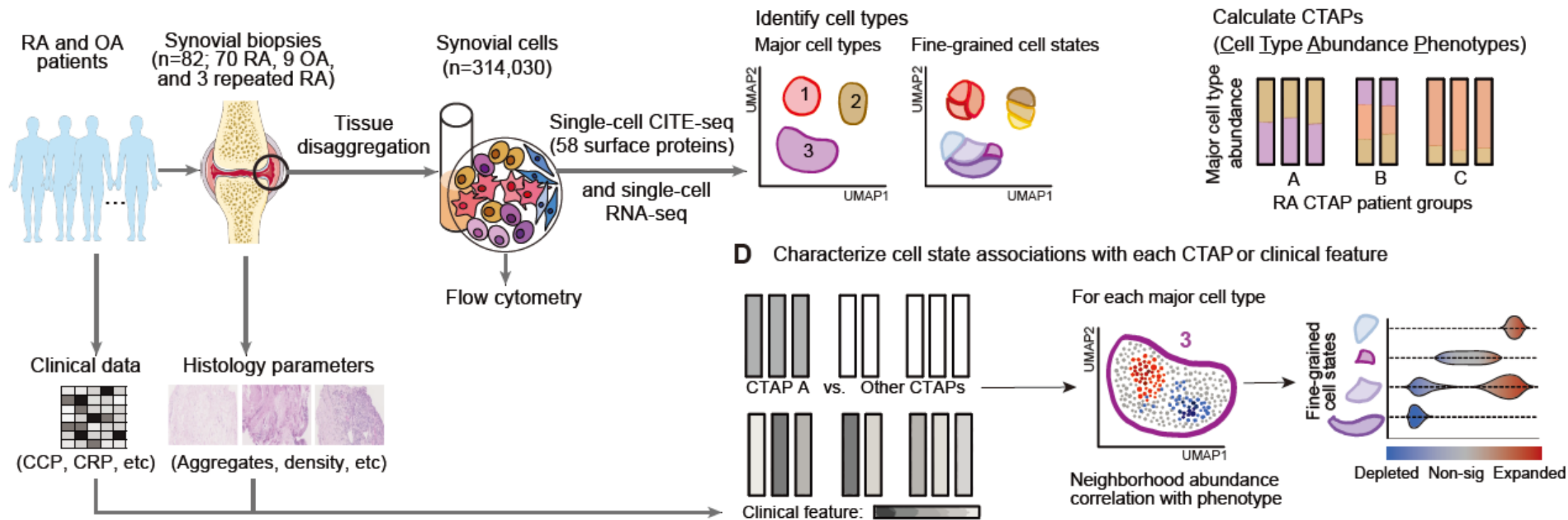


- 単球, B, T細胞集団も定義した. IL1B産生をpro-inflammatory monocytesが, IFNGをCD8<sup>+</sup>Tが高産生していた.

# Deconstruction of rheumatoid arthritis synovium defines inflammatory subtypes

AMP-RA Phase II  
single cell RNAseq  
に基づく分類

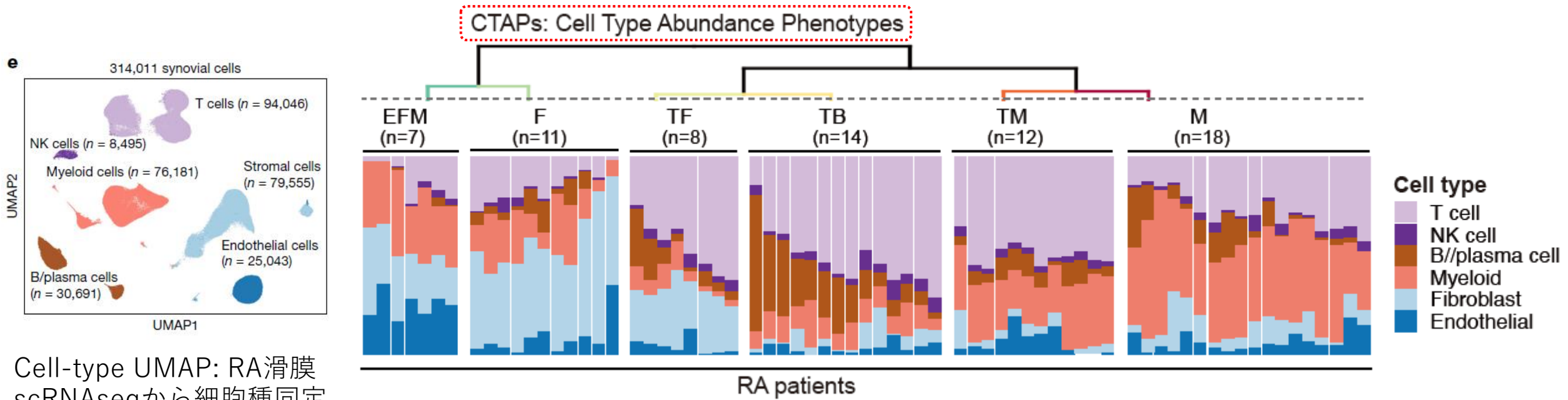
[Nature. 2023;623(7987):616-624.]



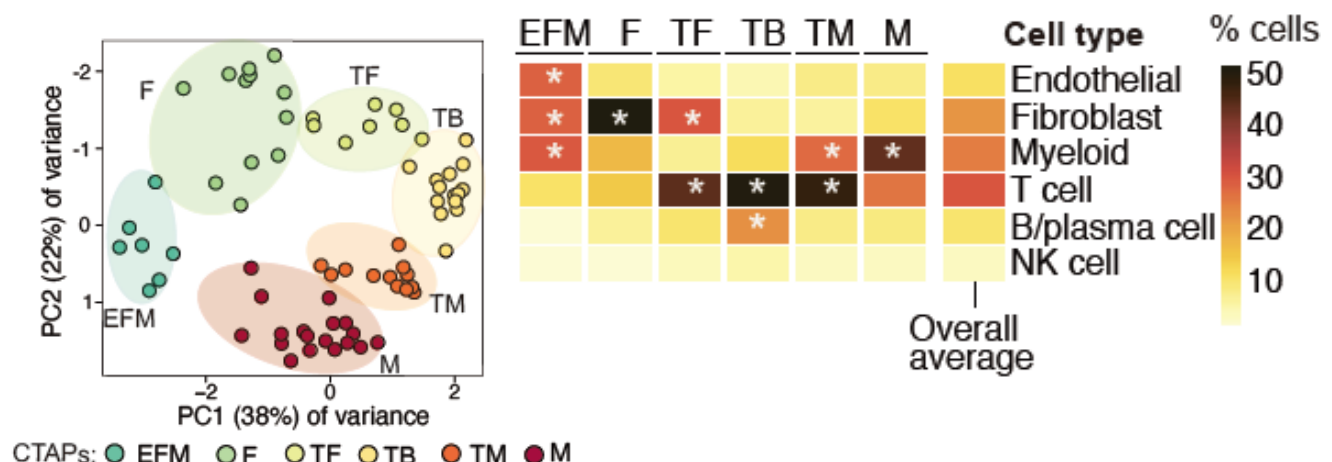
- RA 79人の滑膜scRNAseqと表面タンパク質データと病理組織を組み合わせて、314,000 個を超える細胞を含むRA滑膜組織のアトラスを構築した。



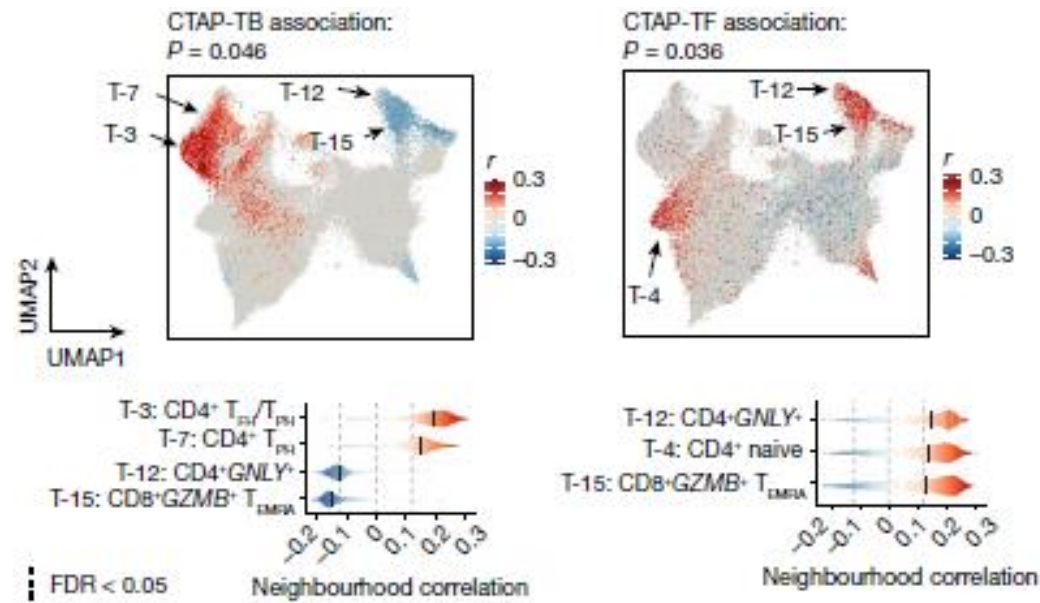
# 滑膜組織パターンが6つに分類される



Cell-type UMAP: RA滑膜 scRNAseqから細胞種同定.

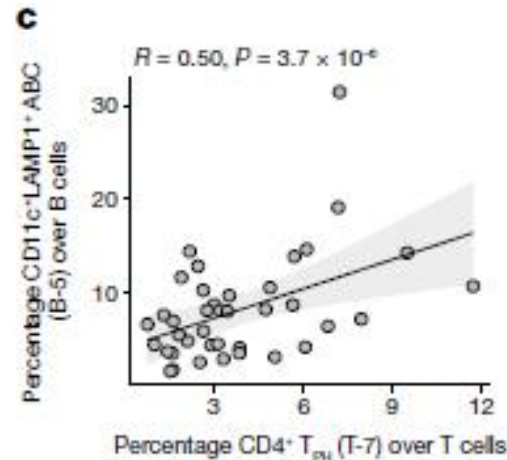
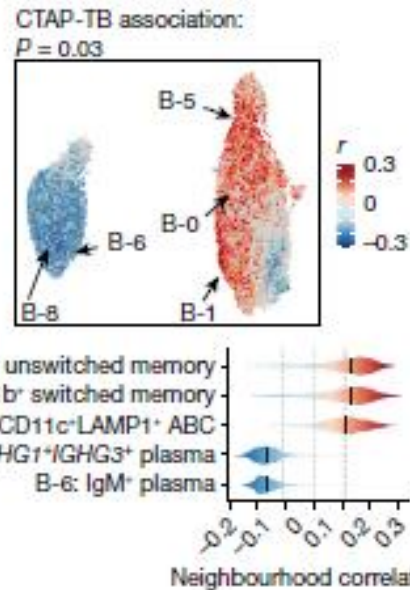


- RA滑膜scRNAseqから細胞種同定.
- RA患者を細胞種で6分類 (CTAPs)
- **TF, TB**: Tと±B
- **M, TM**: Myeloid cell主体
- **EFM, F**: Fibroblast主体で構成, リンパ球が殆どない



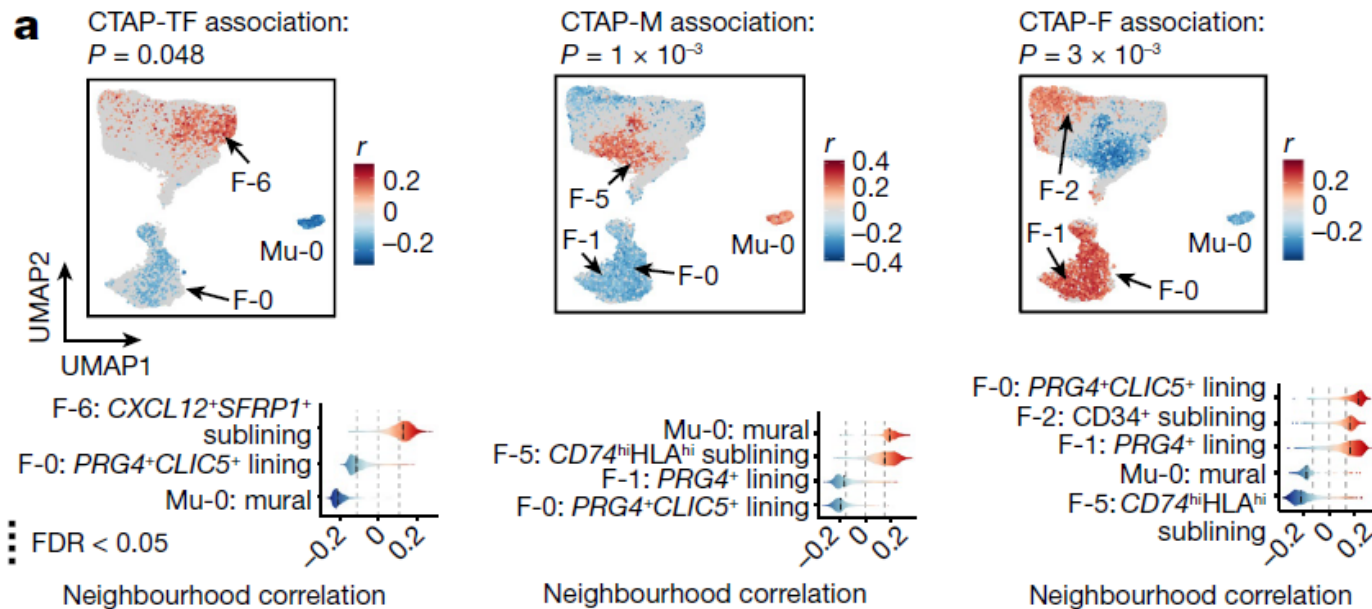
## T細胞UMAP

- **CTAP-TB:** Tfh, Tph増加が特徴
- **CTAP-TF:** 細胞傷害性T増加が特徴.  
 $CD4^+ GNLY^+$ ,  $CD8^+ GZMB^+$



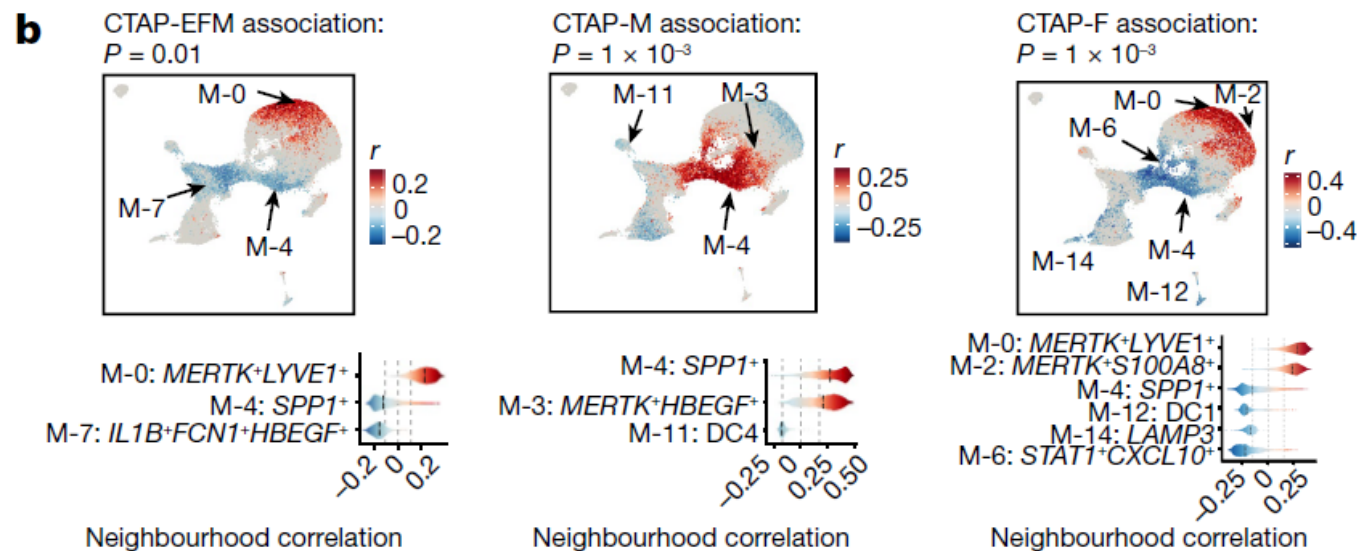
## B細胞UMAP

- **CTAP-TB:** ABC, SwMB, UnSwMBで特徴づけられる。
- ABC数はTfh数と相関している。



## Stromal cell のUMAP

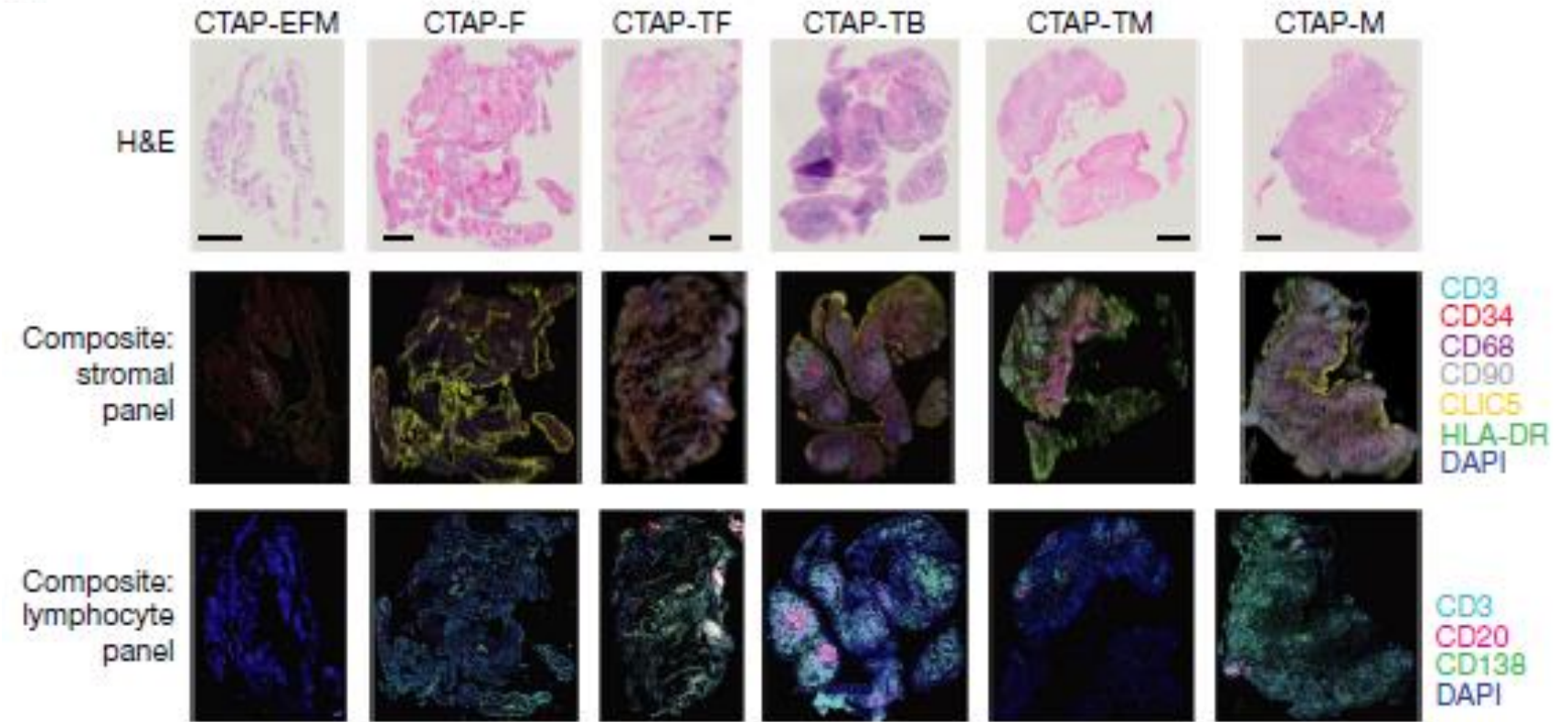
- **CTAP-TF:**  $CXCL12^+$  sublining SFが増加 ( $IL6 \uparrow$  HLA-DR-)
- **CTAP-M:**  $HLA^{high}$  sublining SF (IL-6産生)



## Myeloid cell のUMAP

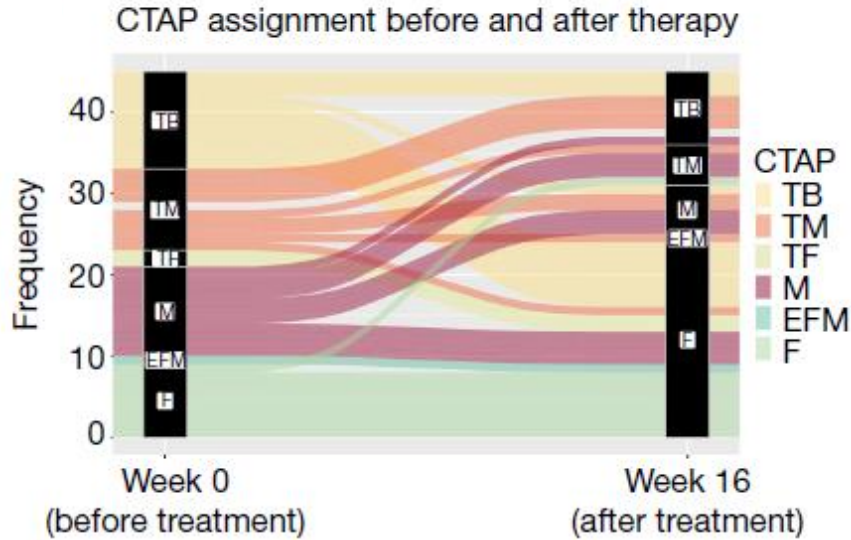
- **CTAP-M:**  $SPP1^+$  M $\phi$ ,  $MERTK^+HBEGF^+$  M $\phi$  増加 (炎症性 Monocyte  $\rightarrow$  M $\phi$ )

# 病理との関連

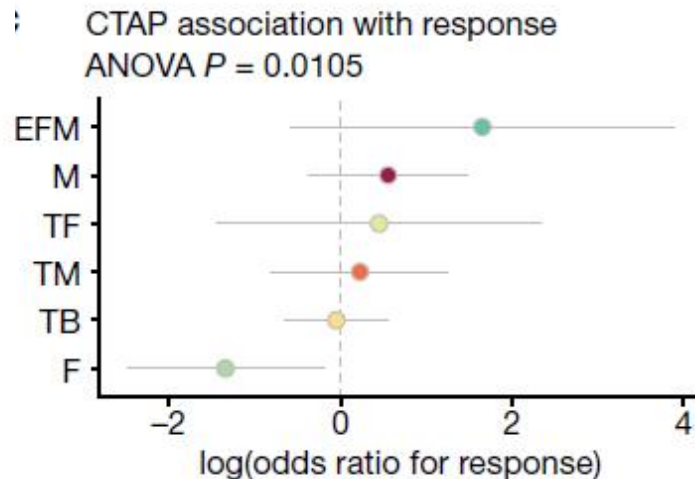


- 滑膜病理結果(n=36) は, CTAP分類と関連があった.
- **CTAP-TB** : CD20<sup>+</sup> B 細胞が最も多くみられた.
- **CTAP-M, CTAP-TM** : CD68<sup>+</sup> 骨髄細胞が最も多くみられた.
- 病理組織分析は, CITE-seq に使用された組織断片とは別であるため, 関節全体にわたる CTAP分類の一貫性を裏付けている.

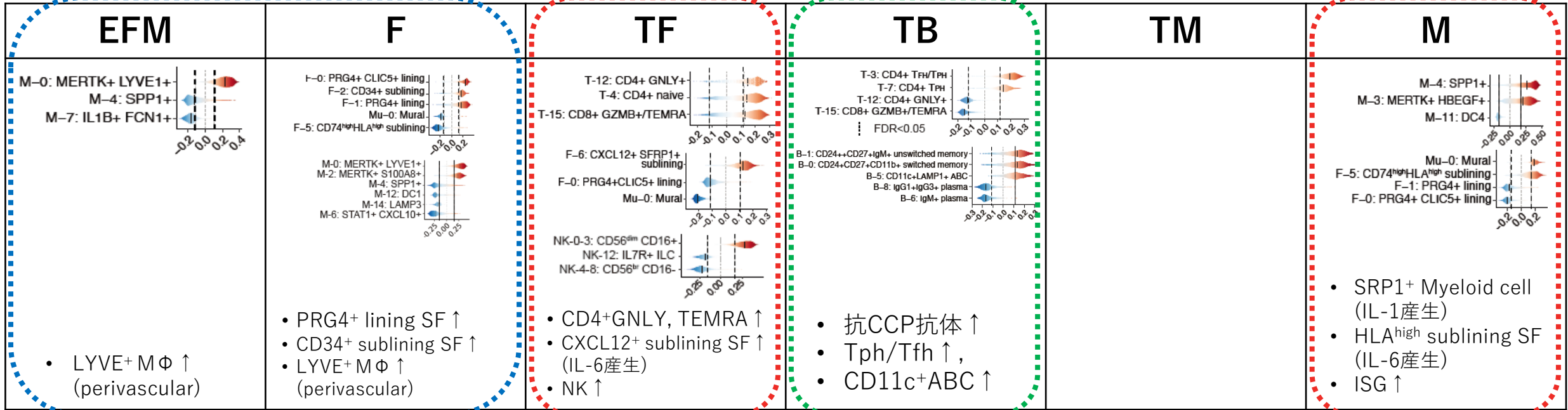
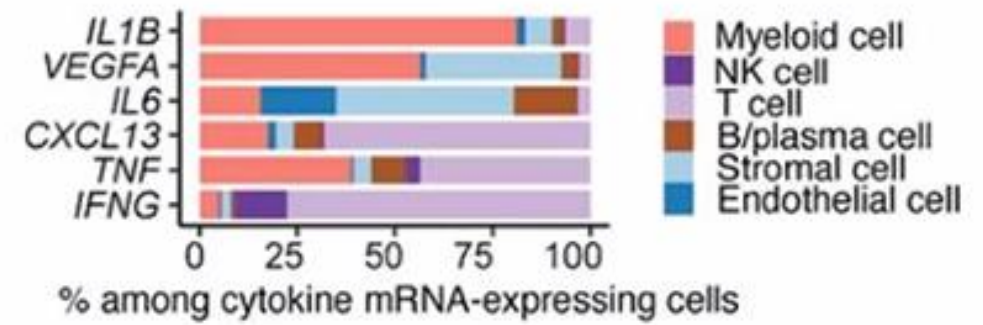
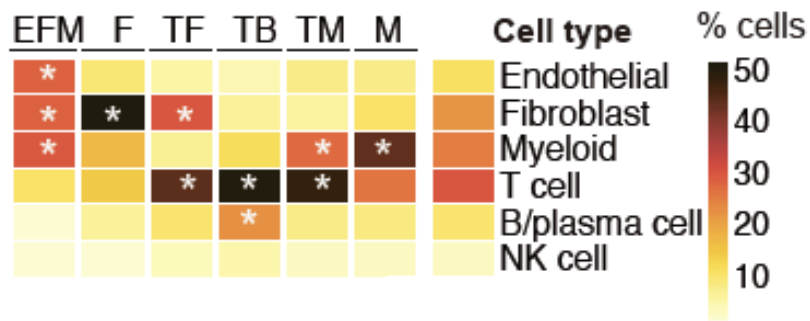
# 治療との関連



- 治療前と治療16週後で生検したR4RA試験のデータで検討した.
- CTAP分類は遷移する.
- RTX/TCZでの治療後, CTAP-Fが多くなる.



- アルゴリズムにより, R4RAのbulk RNAseqのCTAPを決定.
- RTX/TCZ治療でのCDAI 50%以上の改善率は, CTAP-Fで最も低かった.



利用可能な治療標的がない

IL-6, JAK

T-B interaction, B

IL-6, JAK

- **TB** : 抗CCP抗体が高い, T<sub>PH</sub>/T<sub>PH</sub> ↑, CD11c+ABC ↑, T<sub>PH</sub>とABCが相関
- **TF** : CD4+GNLY ↑, TEMRA ↑, CXCL12+ sublining SF ↑ (IL-6産生), NK ↑
- **M** : SRP1+ Myeloid cell ↑ (IL-1産生), HLA<sup>high</sup> sublining SF ↑ (IL-6産生)

# まとめ

- CTAPによる分類で, RA滑膜組織は6つのグループに分類された.
- T/B細胞が豊富な組織から, リンパ球がほとんど欠如している組織まで, RAにおける滑膜炎の多様性が示された.
- 病理組織もCTAP分類と関連づけられていた.
- CTAPは動的であり, 治療反応を予測できるため, 臨床的有用性が高い.
- **TB** : Tfh/TphとABCと関連. extra-follicular activation pathwaysを示唆.
- **TF, M** : 炎症性sublining SFがenrich.
- **TM** : MERTK<sup>+</sup>HBEGF<sup>+</sup> M $\phi$  , SPP1<sup>+</sup> M $\phi$  がenrich.
- **F, EFM** : Fは低治療反応性と関連.