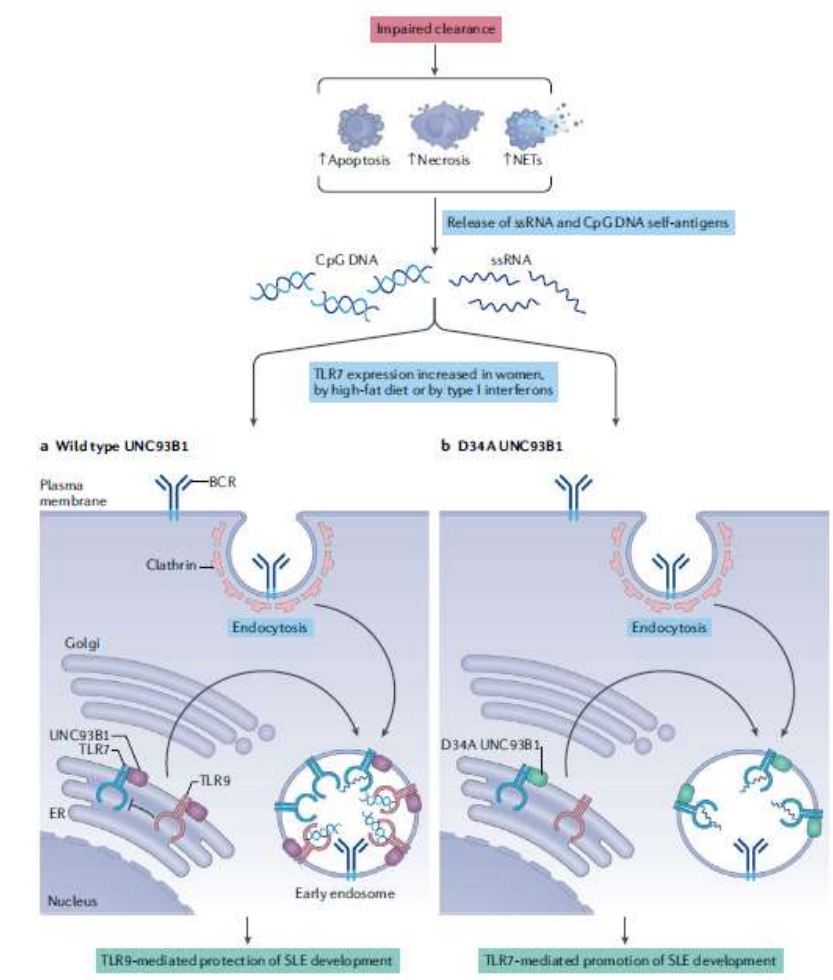


基礎 4. TLR

- [2018 NRR TLR in SLE-B]
- [2013 Immunity B/DC MyD88 depletion]
- [2020 Nature TASL, SLC15A4]
- [2022 Nature TLR7 gain-of-function]

Toll-like receptor signalling in B cells during systemic lupus erythematosus

[Nat Rev Rheumatol. 2021;17(2):98-108.]

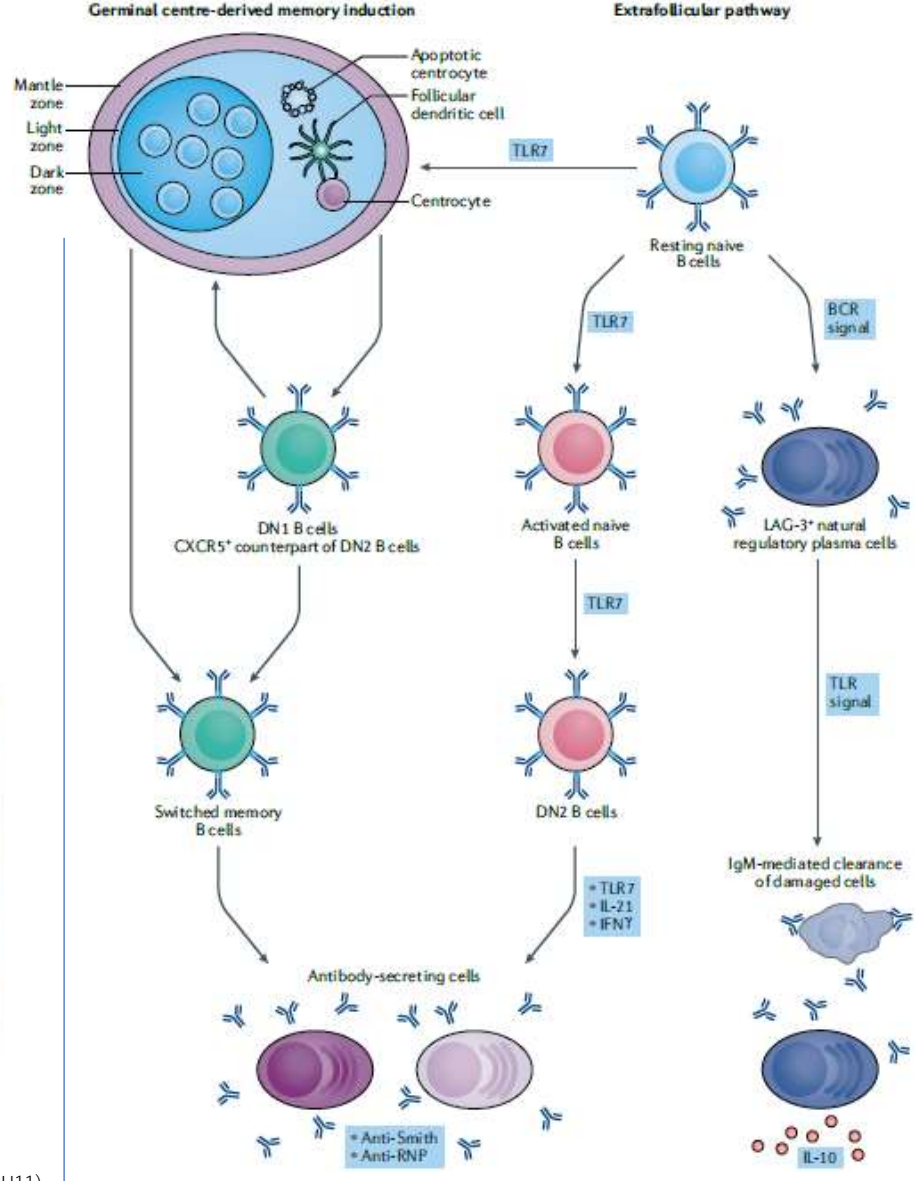


▲ SLEの自己反応性Bは、DNA抗原 (CpG motifなど)、RNA抗原 (ssRNA, small nuclear RNA, U11) を認識する。これら自己抗原はNET, 壊死細胞, apoptosis細胞から放出され、BCRに認識され、endosomeに入るとTLR7/TLR9を刺激する。

TLR7過剰発現する因子 (遺伝, 環境 [女性/高脂肪食/type 1 IFN]) はSLEの感受性を高める。TLR7シグナルはTLR9によって抑制され、SLE発症から保護する。反対に、TLR9の破壊はTLR7シグナルを亢進させ、SLE発症を促進する。

(a) UNC93B1はendosome区画へのTLR7/TLR9の輸送を促し、TLRシグナルに関与する。

(b) UNC93B1のD34A変異はTLR7との相互作用を促進し、endosome内のTLR7量を増やし、TLR7シグナル伝達を強化し、致命的な全身性炎症を引き起こす。



▲ 形質細胞分化の2経路 (胚中心, 濾胞外):

胚中心経路は**DN1** (DN1 B細胞; **CXCR5⁺**IgD⁺CD27⁻細胞) を生成し、また胚中心で産生されたメモリー B細胞は、胚中心に再び入るか、抗Sm/RNP抗体を産生する抗体分泌細胞に分化する。胚中心形成は、TLR7に依存する。

濾胞外経路にもTLR7は関与し、休止naïve B細胞が**activated naïve B** (**CD11c⁺**IgD⁺CD27⁻CD21⁻MTG⁺CD23⁻) になり、その後 **DN2** (DN2 B細胞; IgD⁺CD27⁻CD11c⁺Tbet⁺CD69⁺CD21⁻CD24⁻CD38⁻**CXCR5⁺**FCRL4⁺FCRL5⁺) になる。DN2 B細胞は、SLE患者の病原性の抗体分泌細胞の前駆体であり、**TLR7, IL-21, IFN-γ**によって分化が促進される。

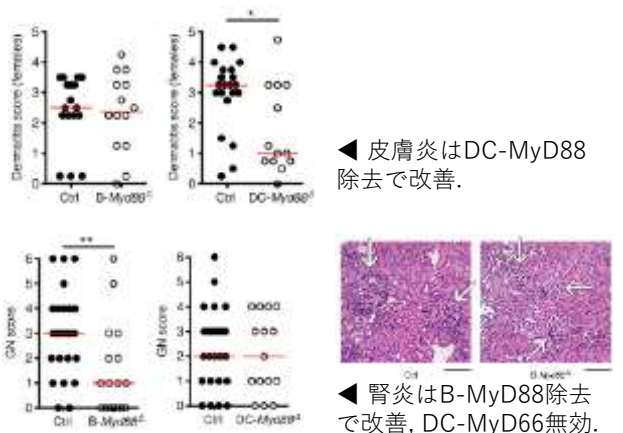
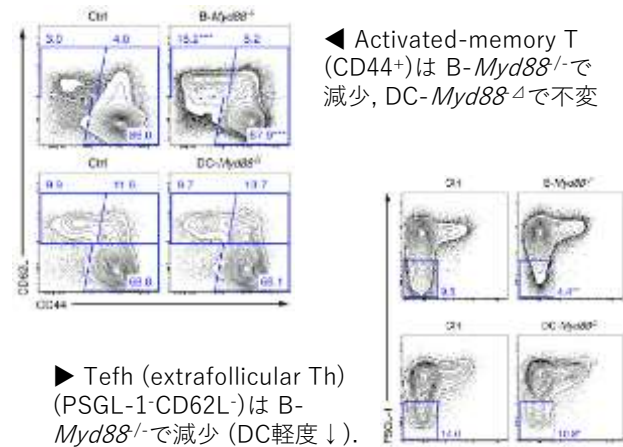
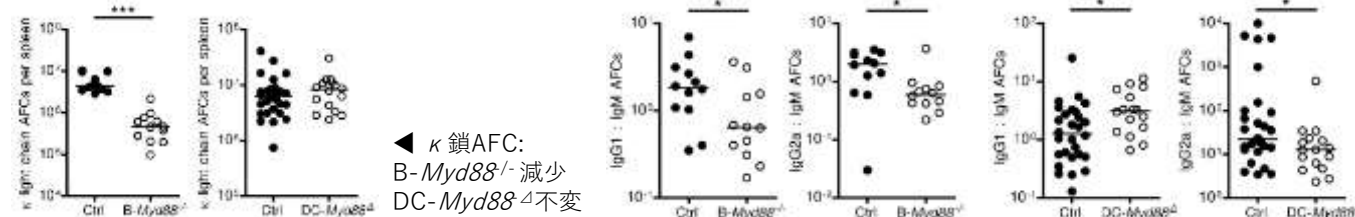
濾胞外経路では、休止naïve B細胞から、BCR依存性に、LAG-3陽性regulatory plasma cellも生成される。本細胞はTLRシグナルに応じて、大量のIL-10を産生する [Immunity 2018;49:120-133]。定常状態では、損傷細胞の抗原に対するIgMも分泌し、損傷細胞の除去に関与する可能性が示唆される。

- B細胞の自己抗原への免疫寛容破綻は、endosome内の核酸sensorであるTLRで制御される。
- **TLR7**: X染色体上にあり、inactivationを逃れるため女性の方が発現が高い (pDC, monocyte, Bに発現)。
- SLEで濾胞外B (activated naïve B, DN2)がASCに分化する際にTLR7は重要 (IL-21/IFN-γが必要)。
- 濾胞内GCBでもTLR7が重要。
- BのTLR7感受性はIFN-γで亢進。SLEの一部でIFN-γ高い。
- **TLR9**: dsDNA抗原の覚知に必要である一方、SLEに保護的に働く。特にTLR7のactivityを制限することで機能する。

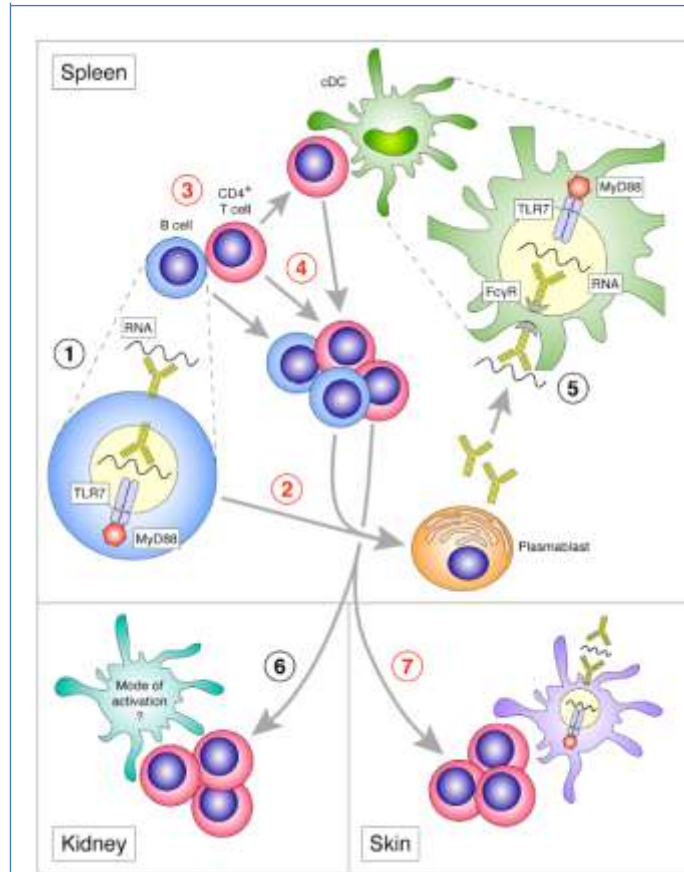
Signals via the Adaptor MyD88 in B Cells and DCs Make Distinct and Synergistic Contributions to Immune Activation and Tissue Damage in Lupus

[Immunity. 2013;38(3):528-40.]

B-*Myd88*^{-/-} (Jh MRL.FAS^{lpr}に20% *Myd88*^{-/-}MRL.FAS^{lpr}BM移入キメラ)
DC-*Myd88*^{-/-} (CD11c-Cre x*Myd88*^{fl/fl}MRL.FAS^{lpr})



▲ クラススイッチ: B-*Myd88*^{-/-}で低下. DC-*Myd88*^{-/-}でIgG1↑/IgG2a↓.

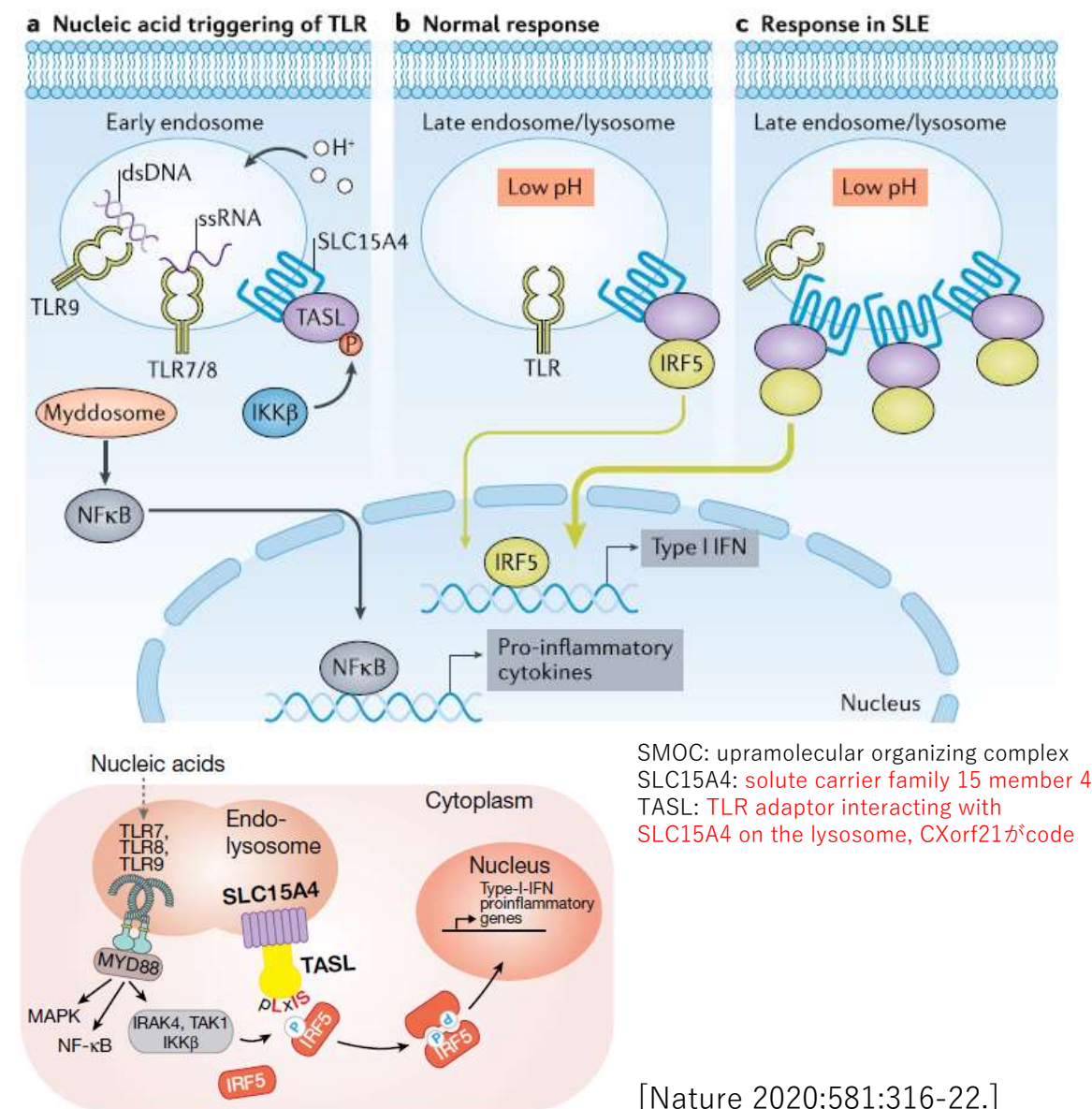


- MRL.FAS^{lpr}のMyD88をB or DC選択的に欠損.
- 抗核抗体/RF産生にはB-MyD88が必要 (DC-).
- AFC産生, CSRはB-MyD88必須, DCで方向性.
- cDC活性化 (IL-12/IL-6/IL-1b産生) にはB, DC双方のMyD88が必要.
- CD4⁺Tの自然活性化に B-MyD88必要 (DC-). Th1/ExFO Th誘導に B, DC-MyD88必要.
- MRL.FAS^{lpr}腎炎はB-MyD88除去で改善する. DC除去は有効だが, DC-MyD88除去は無効.
- MRL.FAS^{lpr}皮膚炎はDC-MyD88除去が有効.
- ループス腎炎には, B細胞TLR/MyD88が重要, 腎DCでは, MyD88以外の系が寄与していそう.

- ① SLEでは自己RNAでBが自発的に活性化している (TLR7/MyD88を介して)
- ② B-MyD88はAFCに分化させるために必須.
- ③ B-MyD88は一般にはCD4⁺Tの活性化には必要ないが, 組織損傷性CD4⁺Tの活性化には必要.
- ④ BとDCのMyD88は, Th1と濾胞外Tfh (Tefh) の機能的分化を促す.
- ⑤ cDCの完全な活性化 (IL-6とIL-12産生能として定義) には, DC-MyD88が必要. cDCのTLR-MyD88刺激は, 自己抗体 (FcγRによるエンドサイトーシス), HMGB1, LL37 による自己核酸の内在化によると想定される. 完全な cDC 活性化は BのMyD88に強く依存しているため, 自己抗体-FcγRの経路がおそらく最も重要. 活性化されたTは, 腎臓や皮膚に動員される.
- ⑥ 腎間質浸潤はDCに強く依存するが DC-MyD88には依存せず, 他の活性化機構が腎DCにあると想定,
- ⑦ 皮膚炎にはDC-MyD88が必要, 皮膚 DCは自己核酸 or 微生物産物に活性化される可能性がある.

The (Orf)ull truth about IRF5 and type I interferons in SLE

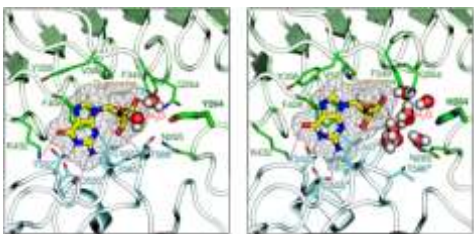
[Nat Rev Rheumatol. 2020;16:543-44.] [Nature 2020;581:316-22.]の紹介



[Nature 2020;581:316-22.]

- GWASで同定された感受性遺伝子：80以上. IRF5, **SLC15A4** (solute carrier family 15 member 4), X-linked gene **CXorf21** (TLR adaptor interacting with SLC15A4 on the lysosome (**TASL**)をcodeする), ただ機能は判明していなかった.
- 本論文では各geneとendosome内のTLR7/9以降のシグナル伝達とtype I IFN産生との関連を示し, かつ女性にSLEが多いことの理由付けがなされる
- TLR: 13の膜型sensor, エンドリソーム関連= TLR 3, 7(ssRNA), 8, 9(DNAで活性化). 核酸で刺激されtype I IFN産生を誘導する
- TLR活性化→Myd88 ↑ →2経路
 - NF-κB: IL-6/TNF/IL-12産生
 - IRF: IRF 3/5/7, type 1 IFN産生に必須. 活性化は多くの機構があるが SMOC(TLR complex)からのIRFリン酸化が主体. TLR3/4とIRF3の関係は確立しているが, 本論文では未知だった**TLR9, 7/8とIRF5との関連を新規に示した**.
- SLC15A4(既知)**: endosome膜12貫通型のhistidine/oligopeptide transporter. Endosome中のpHを調整する. *Feeble* mouse [SLC15A4変異(loss of function)]のpDCはTLR7/9刺激でtype I IFN産生しない. Lupus mice X *feeble* miceはLupusが改善する [PNAS 2013; 110: 2940-45.]
- TASL**: 本論文ではTASLが**SLC15A4下流のアダプター蛋白**であることが新規発見. TASLはIRF adapte蛋白に共通のpLxIS motifを介して**IRF5をリン酸化する**→Type I IFN産生.
- 抗体産生BとpDCはSLEに重要な細胞. TLR7, TLR9を強発現し, IRF7を活性化することは分かっていたがSLEとの関連がmodestのみだった.
- IRF5**がメタ解析でも関連明らかなloci (HLAに次ぐ2nd highest OR). [Bentham, Nat Genet. 2015; 47: 1457-64.]. IRF5はBやpDCでも高発現.
- SLC15A4-TASL-IRF5 pathwayで重要な細胞 → myeloid- derived THP1 cells
- SLEが女性に多いのはホルモンだけでは説明できない(思春期前/閉経後/XXY Klinefelterでも高い). TLR7とCXorf21がX-linkedであり, X-inactivation免れた個体でそれら発現強い. **CXorf21がTASLをcodeすることの発見**がそれを補強.
- SLC15A4はproton-coupled transporterなので (pHを下げてlow pH維持/H+取り込み系), feeble miceではpHは上がることでTLR789機能が下がる. **SLC15A4発現が高いとendosomal pHが低くなりTLR活性化閾値がさがる**.
- IRF5 のORがSLEで高いこと, 女性でendosomal pHが男性より低くCXorf21依存であること, SLEでCXorf21/IRF5発現が高いことがcytokine発現 ↑

TLR7 gain-of-function genetic variation causes human lupus [Nature 2022;605:349-56.]

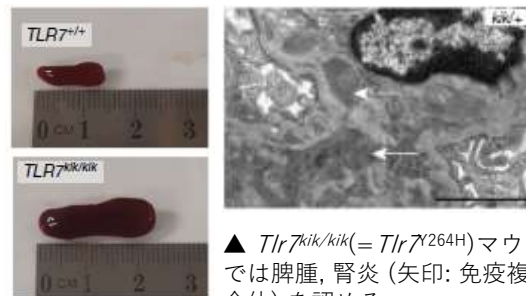


▲ WT(左)のTLR7の水素結合(破線)がY264H(右)で一部消失し、H₂Oが入りguanosineがより安定して結合する。

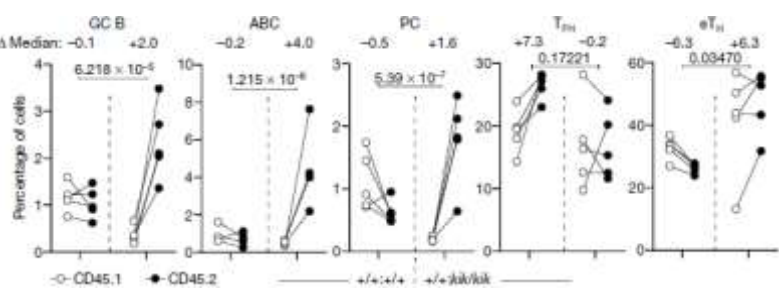
ΔG (kcal mol ⁻¹)		
	Guanosine	R848
WT	0 ± 0.10	0 ± 0.13
Y264H	-1.21 ± 0.10	0.29 ± 0.14
Y264H ⁺	-6.95 ± 0.11	0.35 ± 0.12

Number of H ₂ O molecules		
	Guanosine	R848
WT	2.59 ± 0.07	1.73 ± 0.11
Y264H	4.33 ± 0.11	1.53 ± 0.10
Y264H ⁺	4.33 ± 0.11	1.38 ± 0.16

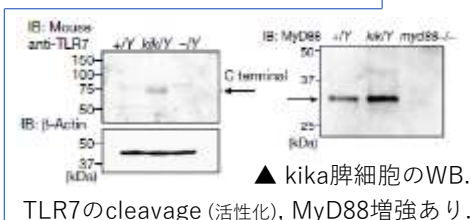
▲ TLR7のY264H変異では、R848ではなくguanosineの結合が亢進。



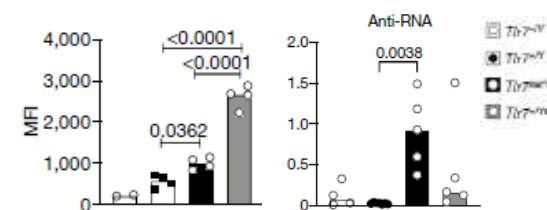
▲ *Tlr7^{kik/kik}* (= *Tlr7^{Y264H}*) マウスでは脾腫、腎炎(矢印: 免疫複合体)を認める。



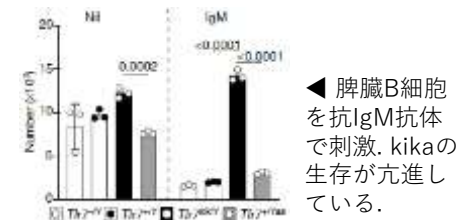
▲ BMキメラマウス解析。WT(CD45.1+CD45.2) [左], WT(CD45.1) + *Tlr7^{kik/kik}* (CD45.2) [右]。GCB, ABC, PCの増加はkika由来, T_{FH}, eT_Hの増加はextrinsicな現象であることが分かる。



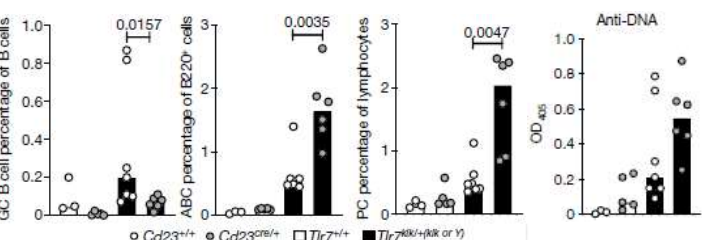
▲ kika脾細胞のWB。TLR7のcleavage(活性化), MyD88増強あり。



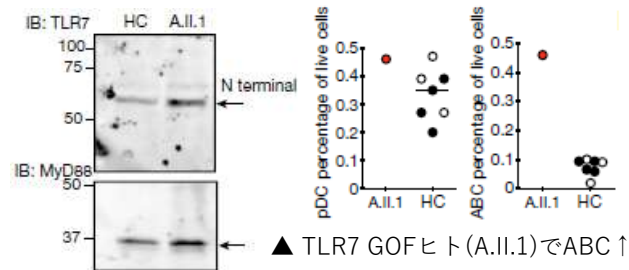
▲ Yaa (resting TLR7のTgマウス) よりkikaはABCのTLR7発現量は低い、自己抗体はYaaより高い。



▲ 脾臓B細胞を抗IgM抗体で刺激。kikaの生存が亢進している。



▲ kikaマウスのGC Bを欠損 [*Bcl6^{fllox/fllox}CD23^{Cre}*] させても、ABC, PCはむしろ増加し、抗DNA抗体の改善を認めない。



▲ TLR7 GOFヒト(A.II.1)PBMCでTLR7 cleavage, MyD88 ↑。

kika (C57BL/6に *Tlr7^{Y264H}* を導入したマウス)

Yaa (X染色体のTlr7含む遺伝子群がY染色体に転座. TLR7 ↑)

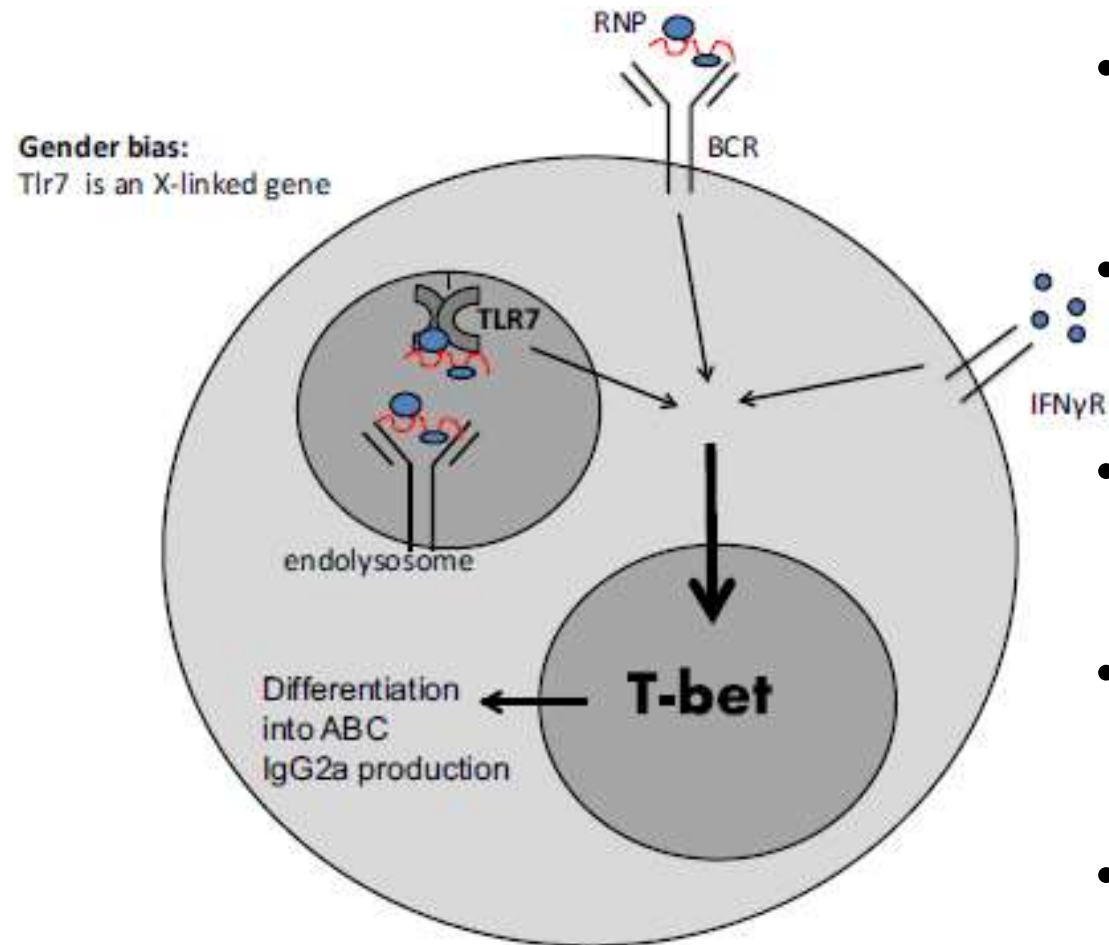
- **TLR7 gain-of-function variant** (Y264H) を、小児lupus患者より新規に同定した。
- TLR7はviral RNAを感知しguanosineに結合する。*TLR7^{Y264H}* variantでは guanosine/2',3'-cGMP¹⁰⁻¹²のsensingが増し、TLR7シグナルが持続的増強。
- *Tlr7^{Y264H}*はlupus表現型(腎炎/Plt↓/臓器炎症, DNA/RNP Ab, 短命)。GCB, ABC, PC, T_{FH}, 濾胞外Thが増える。
- BMキメラ実験より、**B細胞の増加はcell-intrinsic**, T_{FH}/eT_Hはcell-extrinsicな増加だった。
- *Tlr7^{Y264H}*のTLR7発現量はYaaより低い、**TLR7シグナル増強**しており、BCR刺激での**生存が亢進**。
- *Tlr7^{Y264H}*のphenotypeは、MyD88依存性であるが、**GC B非依存性で、濾胞外B細胞の病原性を示唆**。(MyD88 KOで自己免疫改善, GC B欠損 [*Bcl6^{fllox/fllox}CD23^{Cre}*] で不変)。
- TLR7 GOF変異ヒト細胞でも、TLR7シグナル増強, ABC, DNBの増加を認めた。
- TLR7 GOF変異では、TLR7シグナル増強 (MyD88依存) → BCR刺激でGCB/ABC/PC生存 → Lupus. GC非依存性であり、濾胞外Bの関与が大きい。

基礎 5. B cell (ABC, DN2)

- [2015 Cell Immunol ABC]
- [2016 Immunol Rev ABC]
- [2019 Immunol Rev Extrafollicular SLE]
- [2018 Immunity DN2]

TLR7, IFN γ , and T-bet: Their roles in the development of ABCs in female-biased autoimmunity [Cell Immunol. 2015;294(2):80–83.]

Kira Rubtsova ^{a,b,*}, Philippa Marrack ^{a,b,c,d}, Anatoly V. Rubtsov ^{a,b}

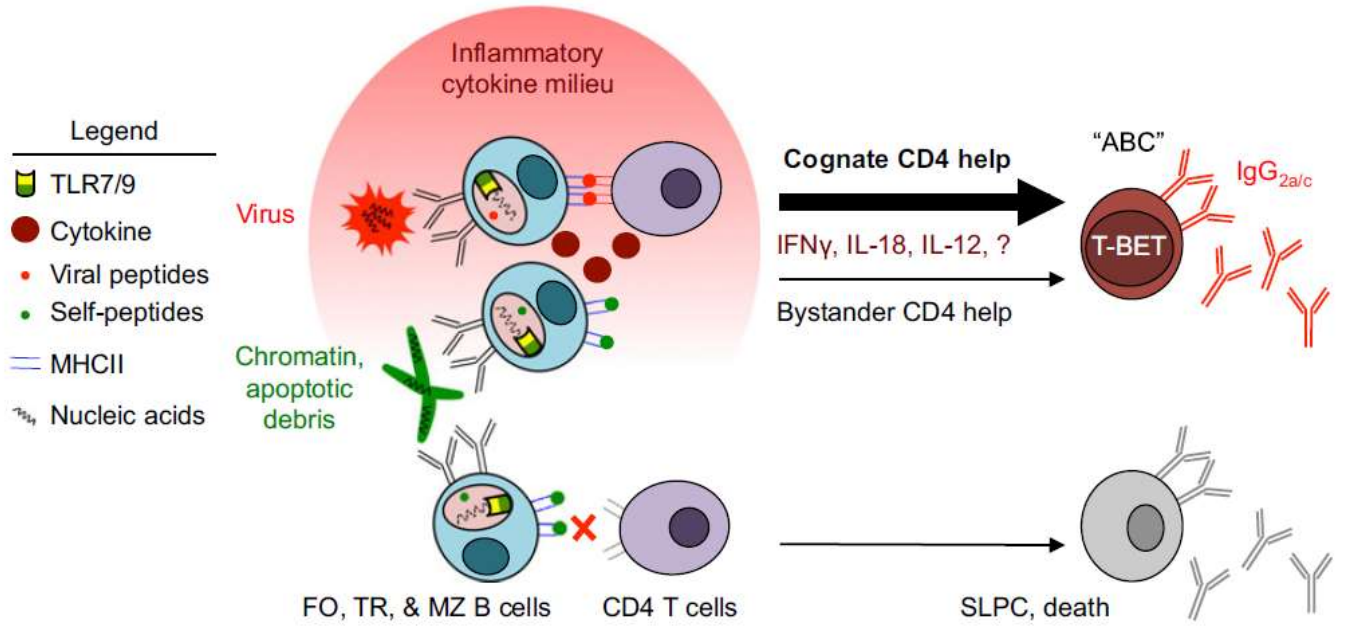


- Age associated B cell (ABC)は, **CD11c陽性**で定義されるB細胞 [Blood. 2011;118:1294–304, 1305–15.]
- ABCは刺激後high-titerのIgG2a主体の自己抗体を産生する(MZB, follicular, B1 Bでは低値).
- ABCは加齢したWT雌マウスと自己免疫マウスの脾臓で認める (雄WTでは認めない).
- ABCには**T-bet**発現が必要で, IgG2a isotype産生に寄与する [PNAS 2013;110(34):E3216-24.].
- BCR, TLR7, IFN- γ がB cellのT-bet高発現に必要.

Age-associated B cells: key mediators of both protective and autoreactive humoral responses

FO: Follicular
TR: Transitional
MZ: Marginal zone
SLPC: short-lived plasma cell

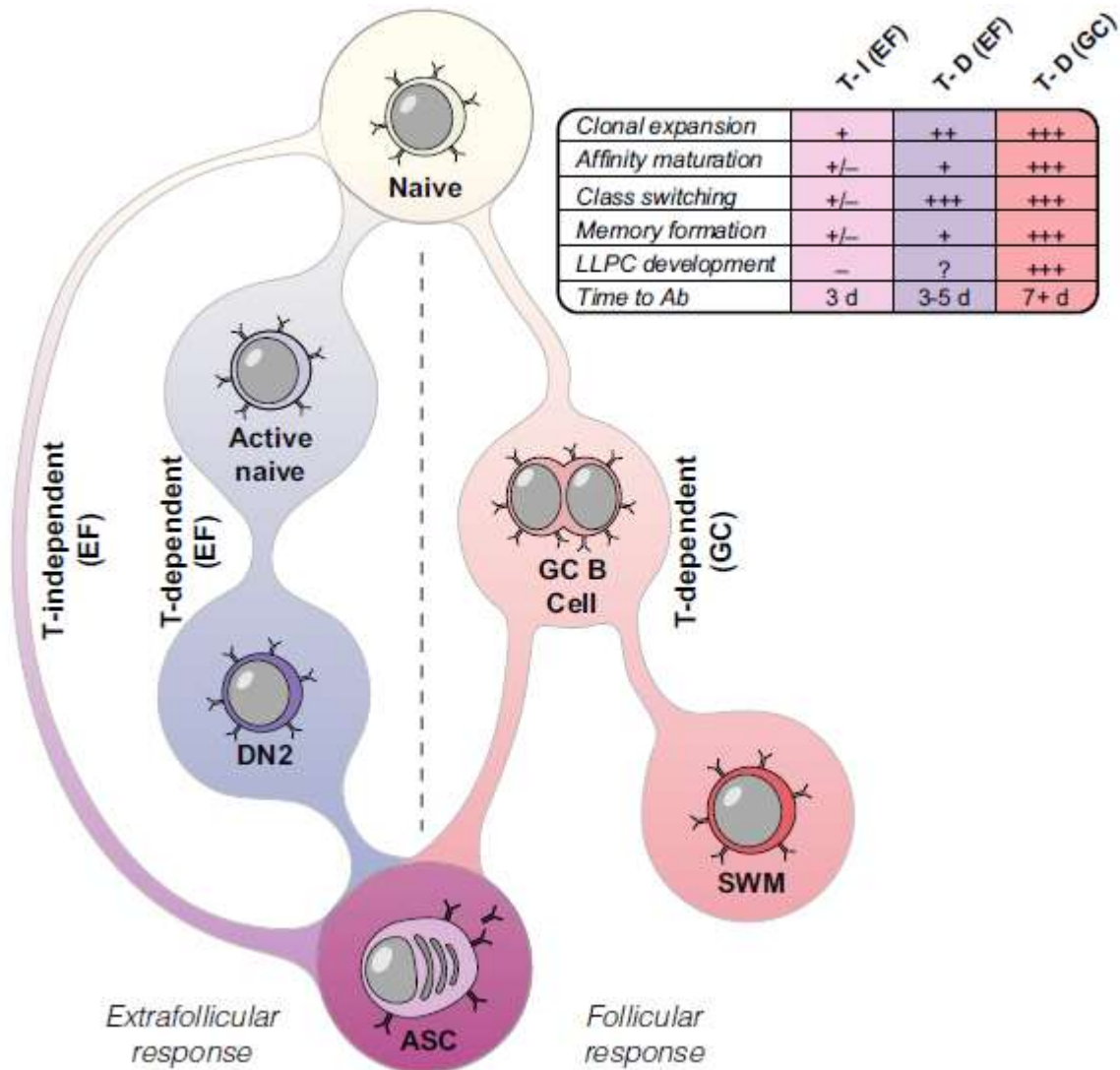
Locale	B cell subset	Surface phenotype	Transcriptional regulators	BLyS receptors	Survival cytokine dependence
BM	pro-B	CD19 ⁺ , CD43 ⁺ , CD93 ⁺ , IgM ⁻ , IgD ⁻	PAX5	None	IL7
	pre-B	CD19 ⁺ , CD43 ⁺ , CD93 ⁺ , IgM ⁻ , IgD ⁻	PAX5	None	unknown
	Imm	CD19 ⁺ , CD93 ⁺ , IgM ^{hi} , IgD ^{lo/-}	PAX5	BR3/TACI	unknown
Spleen/ Blood	TR	CD19 ⁺ , CD93 ⁺ , CD43 ⁺ , IgM ^{hi} , IgD ^{lo/-} , CD21 ⁻ , CD23 ⁻	PAX5	TACI/BR3	BLyS
Blood, lymph, spleen	FO	CD19 ⁺ , CD93 ⁻ , CD43 ⁻ , IgM ^{lo} , IgD ^{hi} , CD21 ^{lo} , CD23 ⁺	PAX5	TACI/BR3	BLyS
	MZ	CD19 ⁺ , CD93 ⁻ , CD43 ⁻ , IgM ^{hi} , IgD ^{lo} , CD21 ⁺ , CD23 ^{lo}	Notch targets	TACI/BR3	BLyS
Lymph nodes, Spleen	GC (DZ)	CD19 ⁺ , IgM ⁻ , IgD ⁻ , PNA ⁺ , CD95 ⁺ , CXCR4 ⁺ , CD83 ⁻	BCL6	BR3	BLyS
	GC (LZ)	CD19 ⁺ , IgM ⁻ , IgD ⁻ , CD23 ⁺ , PNA ⁺ , CD95 ⁺ , CXCR4 ⁻ , CD83 ⁺	BCL6	BR3	BLyS
Spleen Blood, BM	SLPC	CD19 ⁺ , B220 ⁺ , IgM ^{+/+} , IgD ⁻ , CD138 ^{hi}	BLIMP1	TACI/BCMA	APRIL? BLyS? IL6
	LLPC	CD19 ⁺ , B220 ⁺ , IgM ⁻ , IgD ⁻ , CD138 ^{hi}	BLIMP1	BCMA	APRIL?
	Sw	CD19 ⁺ , IgM ⁻ , IgD ⁻ , CD38 ⁺ , PDL2 ^{+/+} , CD73 ^{+/+} , CD80 ^{+/+}	unknown	BR3	unknown
	Bmem				
	IgM ⁺ Bmem	CD19 ⁺ , IgM ⁺ , IgD ⁻ , CD38 ⁺ , PDL2 ^{+/+} , CD73 ^{+/+} , CD80 ^{+/+}	unknown	BR3	unknown
Spleen Blood, BM	ABC	CD19 ⁺ , CD93 ⁻ , CD43 ⁻ , IgM ^{+/+} , IgD ^{+/+} , CD21 ⁻ , CD23 ⁻ , CD11c ^{+/+}	T-BET	BR3/TACI	unknown



- ABCは、①T-BET、②TLR7/TLR9リガンドへの強い応答、③IgG_{2a/c}産生が特徴で、ヒト/マウスで同定されている。
- 加齢で増加し、感染（ウイルス/細菌/寄生虫）、自己免疫反応でも認める。
- ABCは、炎症性サイトカイン環境における、核酸を含む抗原によって生成されるmemoryサブセットと考えられる。

Extrafollicular responses in humans and SLE

[Immunol Rev. 2019;288(1):136-48.]



自己抗体産生細胞 (ASC) の形成過程

1) 濾胞内, 2) 濾胞外 2-1) T依存性, 2-2) T非依存性

1) 濾胞内 (T依存性)

- 胚中心(GC)でLong-lived plasma cellに分化し, 高度に変異した抗体を産生する. Switched memory Bも産生. B cell depletion療法でも安定している.

2-1) 濾胞外 (T依存性)

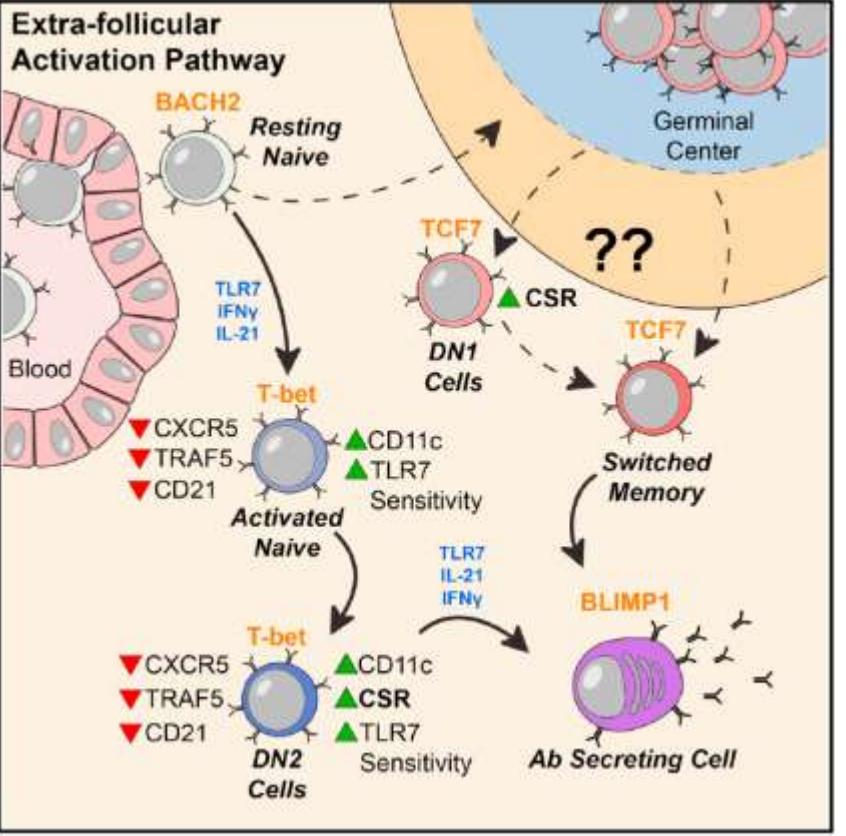
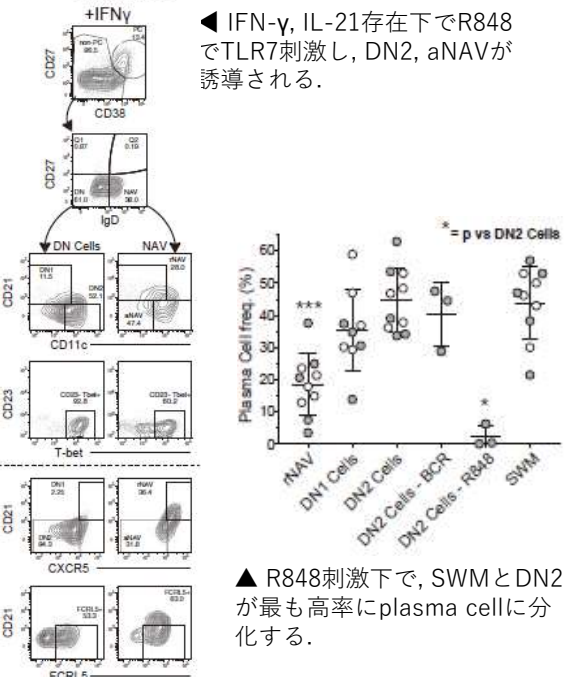
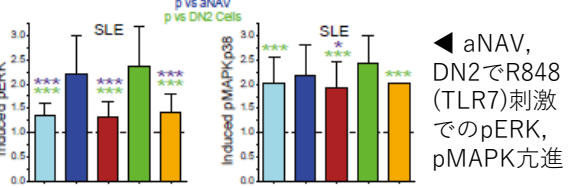
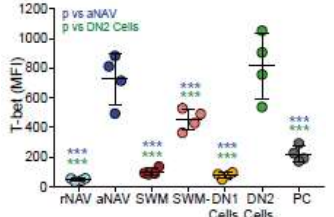
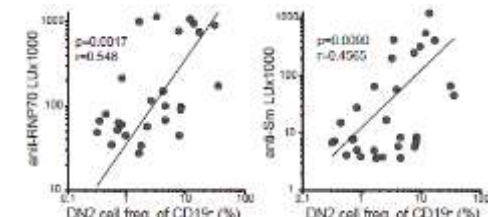
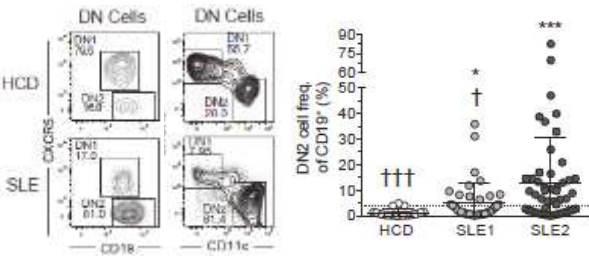
- SLEではこの経路のB細胞が増加しており, IL-21やIFN- γ によってactivated naïve B (aNAV), DN2細胞が誘導される.
- Short-lived plasma cellに分化し, クローン増殖, クラススイッチも認める.

本reviewにおけるABCについての見解

- 明確なsubsetの定義がない. CD21-CD11c⁺T-bet⁺は複数のsubsetに認めるが, DN2で一番多い.
- CD21-CD11c⁺T-bet⁺は活性化したBに共通する特徴のため, ABC特異的なマーカーの同定が必要.

Distinct Effector B Cells Induced by Unregulated Toll-like Receptor 7 Contribute to Pathogenic Responses in Systemic Lupus Erythematosus

[Immunity. 2018;49(4):725-39.]



- CD38^{hi}CD27^{hi} PBを除くCD19⁺Bを展開 → IgD⁻CD27⁻ double negative B (DNB)
- **DN1**: CXCR5⁺CD21⁺, **DN2**: CXCR5⁻CD21⁻DNB
- DN2は**CD11c**高発現 (DC/単球/Extra-follicular PB) し、HCより**SLE**で著増.
- DN2はhoming markerを欠く濾胞外Bで、African-American, 高疾患活動性, 腎炎, 抗Sm/RNP抗体陽性患者が多い
- DN2 (CXCR5⁻CD24⁻CD38⁻CD11c^{hi}) は、aNAV (activated naïve B; CD19^{hi}CD21⁻, SLEで増加するAb産生PCのmajor source) と表現型や機能, mRNA発現が類似する.
- DN2は**T-bet**, **TLR7**発現し, TRAF5 (TLR regulator)に欠け, **TLR7**が過剰に活性化されている,
- DN2はaNAVに似たpre-plasma cellで, **TLR7**, **IL-21**を介して形質細胞に分化し, 自己抗体を産生する.

基礎 6. T cells (Tfh, ExFO Th)

- [2019 NRR Tfh, Tfr]
- [2005 Nature sanroque]
- [2015 A&R Tfh SLE]
- [2019 Nat Med Th10 (ExFO Th)]

T follicular helper cells and T follicular regulatory cells in rheumatic diseases

[Nat Rev Rheumatol. 2019;15(8):475-90.]

T_{FH}

- *Rc3h1^{san/san}* (sanroque) マウスは, Roquin-1 (mRNA転写調節因子) *san* アレルのホモ接合体であり, lupusの表現型を示す. GC過剰形成とT_{FH}の増加がみられ, ICOS, OX40, IFN γ の異常高発現を示す (37, 113-6).
- BDX2マウスでは, IL-21とIL-17がGCのT_{FH}増加, GC B増加に寄与する (120-122).
- マウスの解析で, ETS1 (SLE関連SNP) がT_{FH}2 分化とIL-4産生を抑制していた (131).
- SLE患者血中のT_{FH} [CXCR5+PD1+(ICOS+)] はHCより多く, Plasmablast, SLEDAI, ANA, dsDNA抗体と相関する. SLEでは血清IL-21とIL-21+CD4⁺ T細胞がHCより多い (37, 126-129).
- SLE患者でT_{FH}2, T_{FH}17が増加し, T_{FH}1が減少する傾向がある (130, 131).
- マウスモデルと一致して, SLE 患者で過剰なT_{FH} 細胞分化が起こる可能性が示されている.

T_{FR}

- SLE患者血中のT_{FR} [CXCR5+CD25+CD127-]の減少, T_{FR}: T_{FH} 率が低下する (ただしFOXP3不使用) (132).
- 無治療SLE患者でT_{FR} [CXCR5+FOXP3+] の増加, T_{FR}: T_{FH} 率の上昇, T_{FR}とSLEDAI, 抗SSA/RNP抗体と正の相関が報告されている (133).

37. Immunity. 2013;39:770-81.
113. Nature. 2005;435:452-58.
114. Nature. 2007;450:299-303.
115. J Exp Med. 2009;206:561-76.
116. Immunity. 2013;38:655-68.

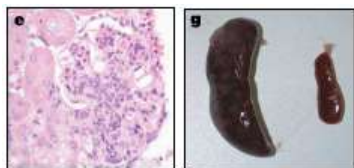
120. Nat Immunol. 2008;9:166-75.
121. Arthritis Rheumatol. 2014;66:2601-12.
122. PLoS One. 2015;10:e0120294.
126. Arthritis Rheum. 2010;62:234-44.
127. Arthritis Rheumatol. 2015;67:988-99.

128. Lupus. 2015;24:909-17.
129. J Rheumatol. 2012;39:1819-28.
130. PLoS One. 2013;8:e75319.
131. Immunity. 2018;49:1034-48.
132. Clin Immunol. 2017;183:46-53.
133. Int Immunopharmacol. 2018;56:261-68.

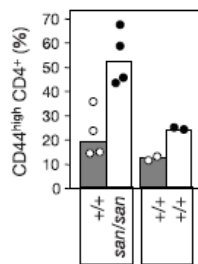
A RING-type ubiquitin ligase family member required to repress follicular helper T cells and autoimmunity

Rc3h1^{san/san} (sanroqueマウス. Roquin 1 code geneのsanアレル)

[Nature. 2005;435(7041):452-8.]

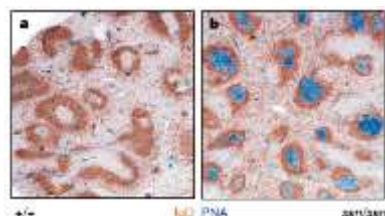
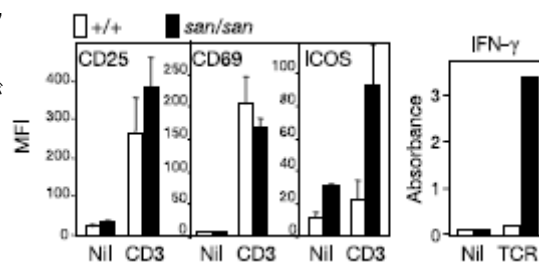


▲ sanroqueマウスで(e) 腎炎, (g)脾腫を認める.

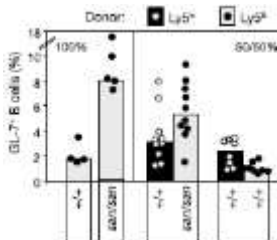


◀ BM mixedキメラで, san/sanマウス由来の活性化T増加を認め, intrinsicなT cell異常が示唆される.

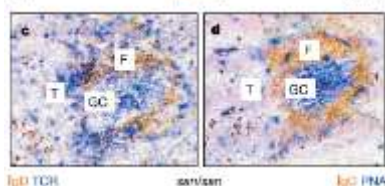
▶ TCR刺激により san/san TでICOSの著増, IFN- γ 産生を認める.



◀ sanroqueマウスのほぼ全ての濾胞で巨大胚中心形成を認める.

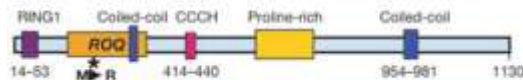
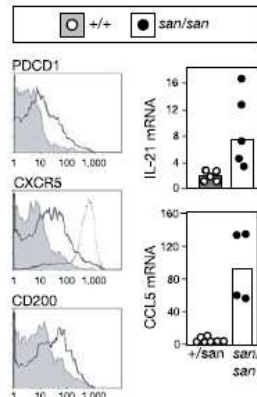


◀ BM mixedキメラで, san/san由来のGC Bの増加を認める.



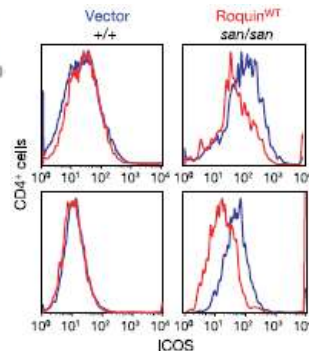
◀ sanroqueマウスでは非常に多くのT細胞がGC内に存在する,

▶ san/san CD3⁺ T細胞は, PDCD1, CXCR5, CD200, CCL5, IL-21 (すべてTfhのmarker)の発現が高い,

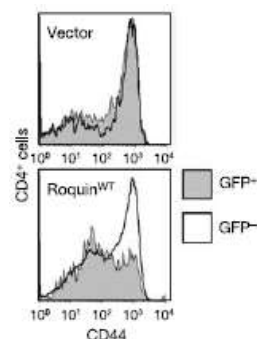


▲ sanroqueマウスの原因であるRc3h1遺伝子のmissense変異. RoquinのROQドメインのM199R.

▶ WT or san/san T細胞に, control (青) or Roquin^{WT} (赤) を遺伝子導入すると, san/sanのICOS亢進が抑制される (上段 day 4/ 下段 day6).



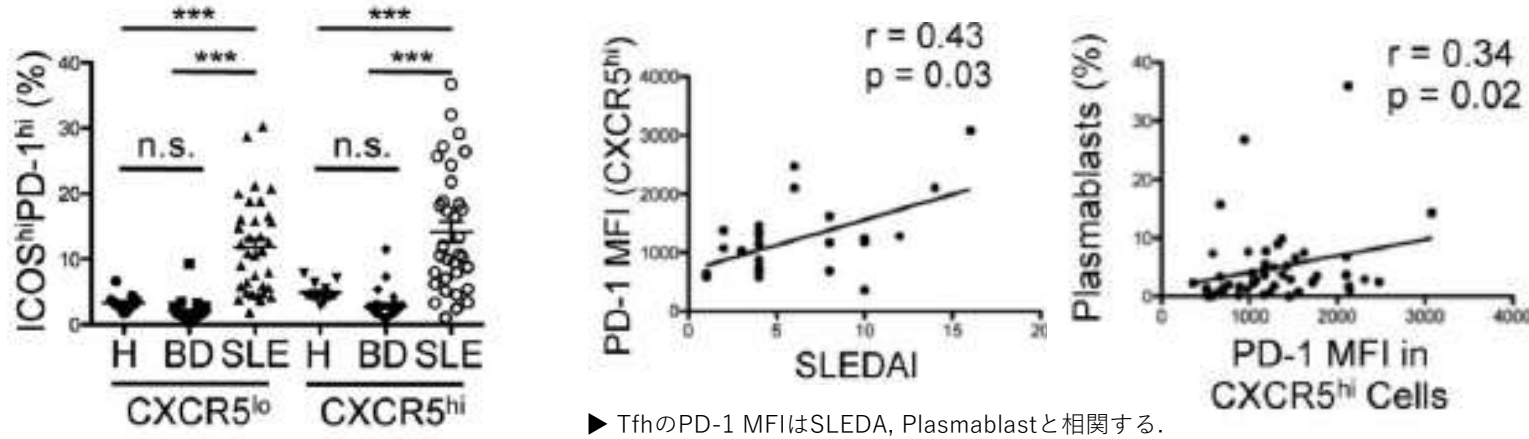
▶ san/san 造血髄幹細胞HSC由来 CD4⁺T細胞に control or Roquin^{WT} を遺伝子導入し照射 WTマウスに移入. Roquin^{WT}導入細胞は活性化が抑制され CD44が低下する.



- sanroqueマウスは脾腫・腎炎・抗DNA抗体など重度のlupus病態を示す.
- IntrinsicなT細胞異常活性化, ICOS $\uparrow$, IFN- γ 産生を認める.
- sanroqueマウスはGCが過剰に形成し濾胞内Tが増加し, TではTfhマーカー発現が亢進 (PDCD1, CXCR5, CD200, CCL5, IL-21).
- 原因遺伝子はRoquinをコードするRc3h1で, san変異はM199R.
- RoquinはCCCH型Zinc finger蛋白で, mRNA安定性の調節に寄与し, 細胞質内顆粒に局在する.
- この変異はTfhに必須の分子であるICOSのリプレッサーを阻害し, IL-21の過剰な産生を惹起する.

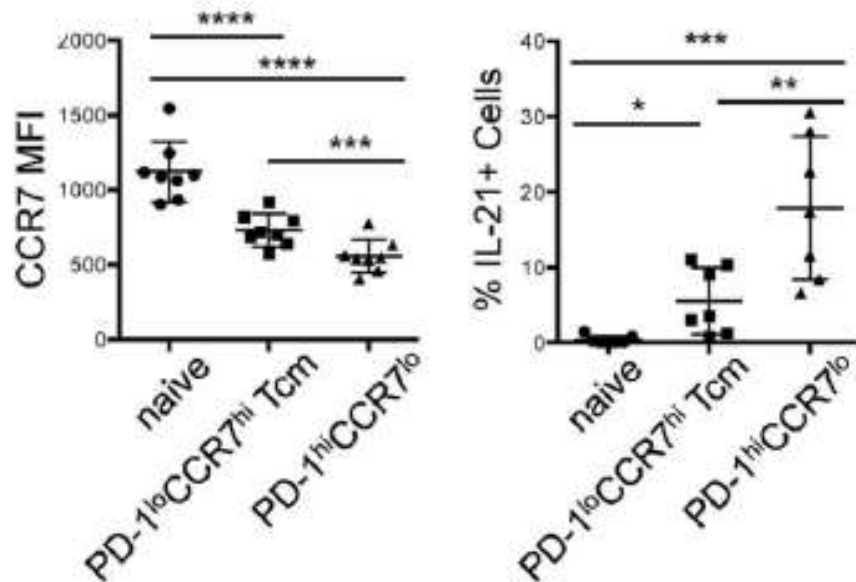
Circulating Follicular Helper-Like T Cells in Systemic Lupus Erythematosus

Association With Disease Activity [Arthritis Rheumatol. 2015;67(4):988-99.]



▲ SLEでTfh-like Tが増加している。

▶ TfhのPD-1 MFIはSLEDAI, Plasmablastと相関する。

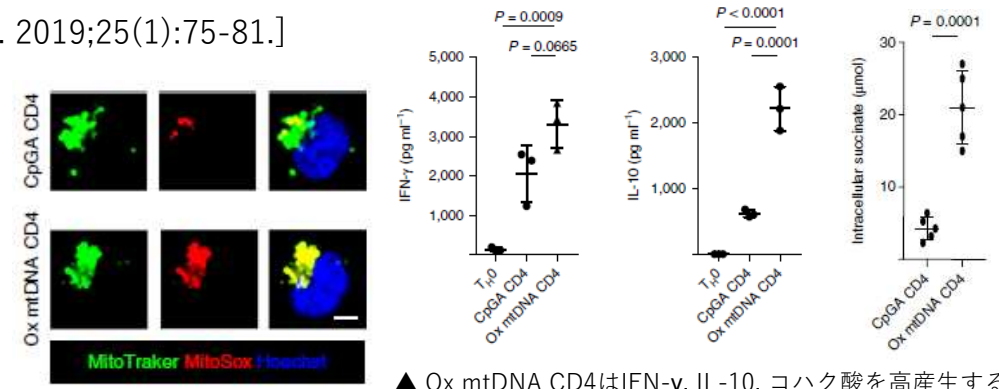


◀ CXCR5^{high}ICOS^{high}PD-1^{high} (Tfh-like)と、(Tcm)の比較. TfhはCCR7の発現が低く、IL-21を産生する。

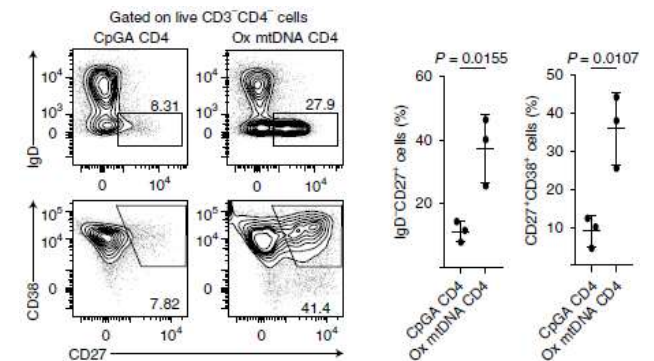
- SLE, BD, HC末梢血のTfhを解析 (CXCR5^{high}ICOS^{high}PD-1^{high})
- SLEではTfhが増加しており、IL-21を産生し、CXCR5^{high} central memory T (Tcm)よりCCR7が低かった。
- Tfhのマーカーでは、PD-1がSLEで発現が高く、SLEDAI, Plasmablastと相関があった (ICOS, CXCR5は相関ない)。
- 末梢血TfhはSLEの病態と関連があり、GCでのT-B相互作用を反映する。

A CD4⁺ T cell population expanded in lupus blood provides B cell help through interleukin-10 and succinate [Nat Med. 2019;25(1):75-81.]

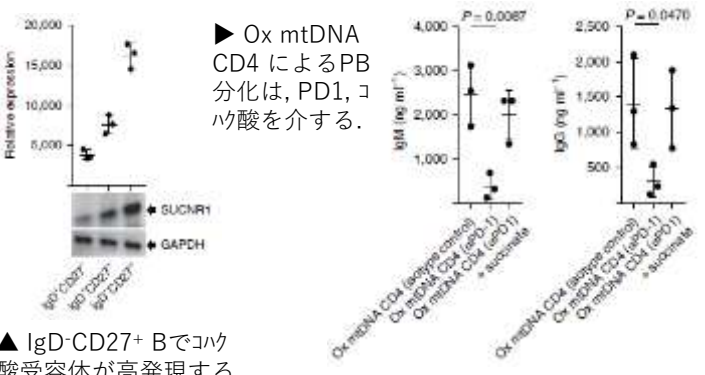
▶ TLR9リガンドであるCpGAと好中球由来酸化mtDNAで刺激したヒトPBMC由来pDCを作成。IFN α 高産生, CXCR4 $\downarrow$, CXCR3 $\downarrow$ CCR7 $\uparrow$ (二次LN移動促進) 各pDCをヒトCD4⁺T細胞と共培養してCpGA CD4, Ox mtDNA CD4を誘導。
Ox mtDNA CD4の方がミトコンドリア活性酸素 (mtROS)を高産生する。



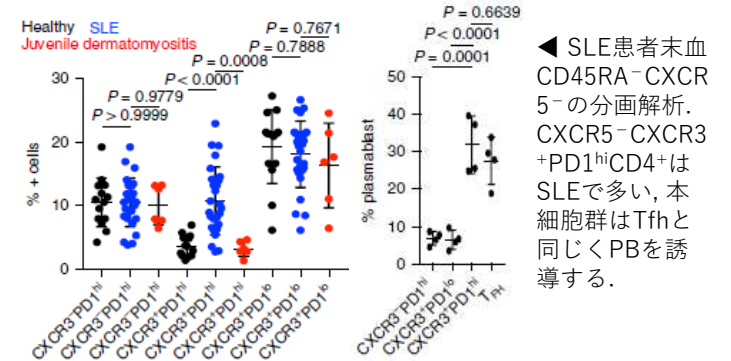
▲ Ox mtDNA CD4はIFN- γ , IL-10, コハク酸を高産生する。



▲ Ox mtDNA CD4は、naïve Bとの共培養で、IgD-CD27⁺B細胞, CD27⁺CD38⁺B細胞 (PB) を高率に誘導する。

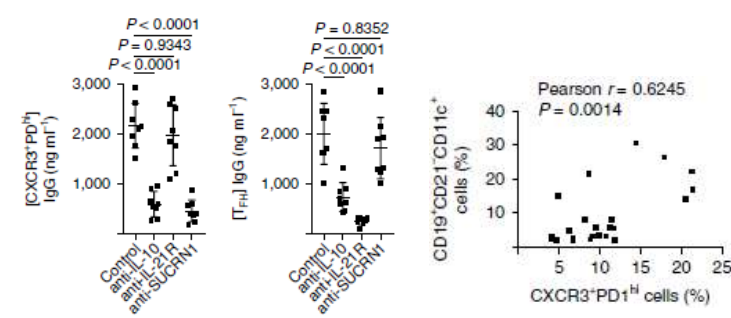


▲ IgD-CD27⁺ Bでコハク酸受容体が高発現する、



▲ SLE末梢血のCXCR3+PD1^{hi} (T_H10) によるPB誘導は、IL-10/コハク酸を介するが、IL-21を介さない。T_{FH}はPB誘導にIL-21を介する。

◀ SLE患者末血CD45RA⁻CXCR5⁺の分画解析。CXCR5⁺CXCR3⁺PD1^{hi}CD4⁺はSLEで多い、本細胞群はTfhと同じくPBを誘導する。



▲ SLE末梢血のCXCR3+PD1^{hi} (T_H10)は、ABC比率と相関する。

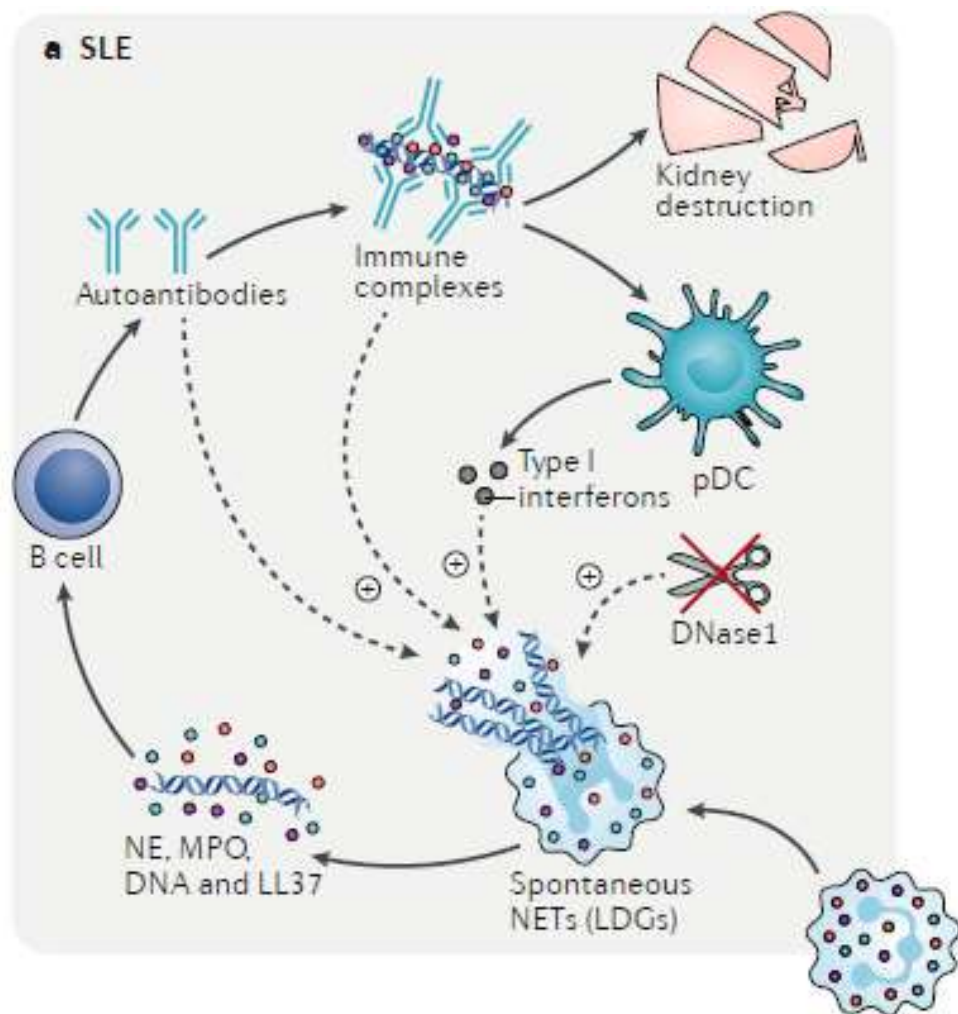
- TfhがSLEの主因とされていたが、SLEの自己抗体にmutationが乏しく、自己反応性B細胞は濾胞外で分化するとされる [Nat Immunol. 2015;16:755–65].
- CXCR5-CXCR3⁺PD1^{hi}CD4⁺ helper T (筆者らがT_H10と命名) がTfhと異なるsubsetで、SLE末血や増殖性LNの尿細管間質areaで増殖することを示す。
- T_H10は、酸化mtDNAでprimingしたpDCより、naïve CD4から誘導される。
- T_H10は、IFN- γ , IL-10, コハク酸 (succinate)を産生し、ミトコンドリア活性酸素 (mtROS) を増やす。
- T_H10は、IL-10とコハク酸を介して naïve B細胞をPBに分化させる (IL-21と独立しておりTphとも異なる)。
- SLE末梢血のT_H10は、IgG/IgAやABC比率と相関する。

基礎 7. NET, LDG

- [2018 NRR NET]
- [2019 ARD LDG]

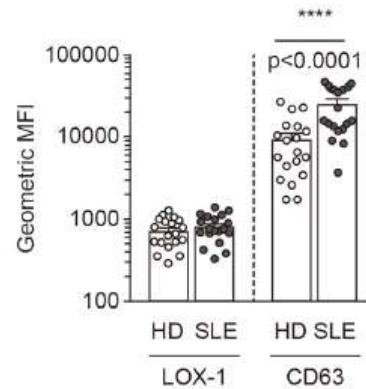
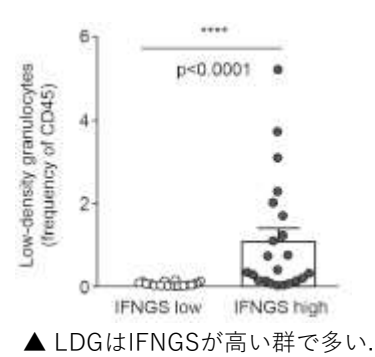
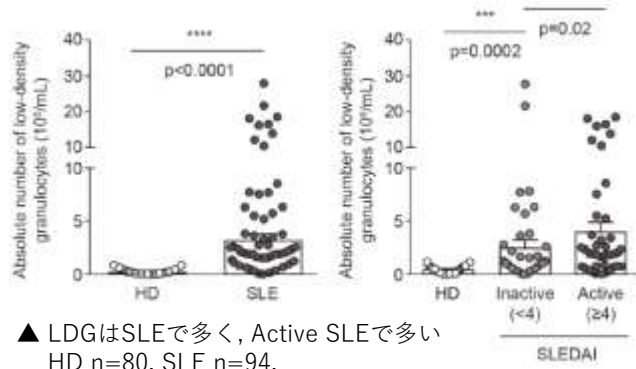
The role of neutrophil extracellular traps in rheumatic diseases

[Nat Rev Rheumatol. 2018;14(8):467-75.]

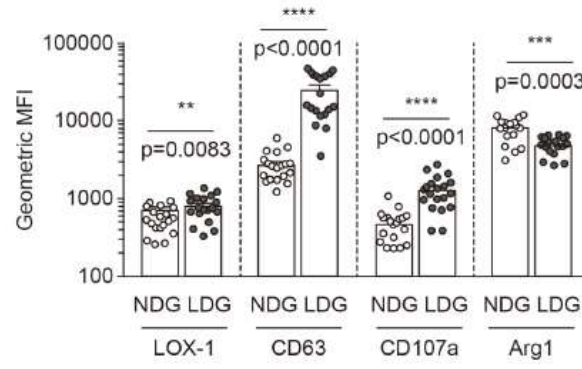


- **NETとクリアランス低下:** NETはSLE患者の皮膚/糸球体で検出される。SLEの好中球は自発的に/またはLL37かribonuclear particleに対する抗体で刺激されてNETを形成する。
- SLEでは, apoptosis 好中球とNETが増加しているが, MΦによるクリアランスが障害されており, 自己抗原の提供につながる。
- SLEの自己抗原 (核抗原 [dsDNA, クロマチン], ヒストン, MPO, PR3, 好中球エラスターゼ) はNETの構成要素である。NETに対する自己抗体はNET 形成を誘導する。自己抗体とNET構成要素による免疫複合体は腎糸球体に沈着し, ループス腎炎発生に直接関与する。
- **DNase 1:** NETはendonucleaseやDNase1様蛋白により分解される。DNase1活性は, SLEの疾患活動性/ANA/抗 dsDNA 抗体と負に相関する。DNase1やDNase1L3をコードする遺伝子変異は家族性 SLE を惹起する。
- 抗体や補体成分C1qなどのNET結合タンパク質は, DNase1を阻害しNETを分解から保護している。SLE患者血清にはglobular actinや抗 DNase1 抗体など, DNase1 を阻害する蛋白が含まれる。
- **Type 1 IFN:** NETはin vitroでpDCのtype 1 IFN産生を誘導する。NETはLL37とHMGB1によりendocytosisされ, TLR9を活性化する。TLR9欠損MRL.FAS^{lpr} マウスでは自己抗体が増加し, 重度の腎炎を呈する。
- **LDG:** SLE 患者では low-density granulocyte (LDG) を認め, 皮膚病変や血管炎と相関する。LDGはIL-6, IL-8, TNF, Type 1 IFNを産生し, 内皮を損傷する NET を自発的に生成し, SLEの病因に関与する可能性がある。

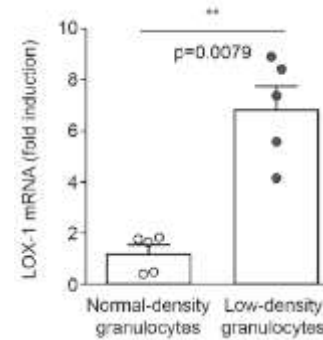
Low-density granulocytes activate T cells and demonstrate a non-suppressive role in systemic lupus erythematosus [Ann Rheum Dis. 2019;78(7):957-66.]



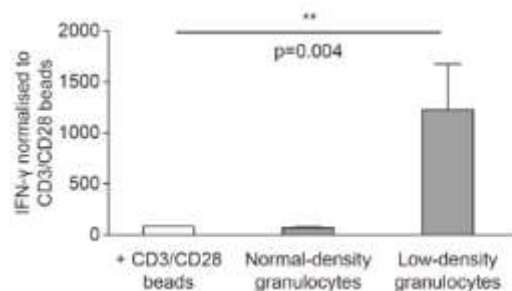
▲ HDとSLEのLDG比較 (ともにn=20)



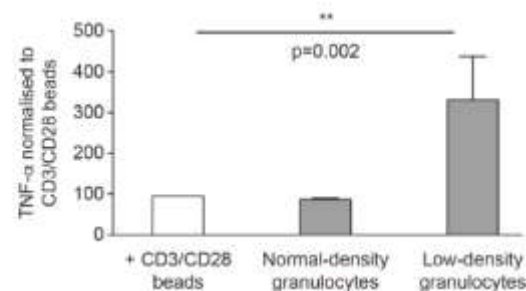
▲ SLEのLDG/NDG比較, LDGの方がactive.



▲ SLEのLDGはLOX-1発現が高い



▲ SLE LDG 上清は, HD CD4+ T 細胞の炎症性サイトカイン産生 (IFN- γ , TNF- α) を誘導する。



- LDGはSLEで多く, SLEDAIやIFN-gene signature (21遺伝子)が高い群で多い。
- SLE LDGでは, 活性化マーカーやLOX-1の発現が増加している。
- SLE LDGの上清は, HD CD4⁺ T 細胞の増殖を抑制せず, 炎症性cytokine (IFN- γ , TNF- α , LT- α) 産生を誘導する (NDGはArginase依存性に増殖抑制する)。
- SLE LDG は活性化の表現型を示し, T 細胞に対して炎症誘発効果を発揮し, MDSC 機能を示さない。
- SLEにおいて, LDG が病原性の可能性をもつ炎症性サブセットであると示している。