

AUTOIMMUNITY

Age-associated CD4⁺ T cells with B cell-promoting functions are regulated by ZEB2 in autoimmunity

Manaka Goto^{1†}, Hideyuki Takahashi^{1†}, Ryochi Yoshida^{1†}, Takahiro Itamiya^{1,2}, Masahiro Nakano^{1,3,4}, Yasuo Nagafuchi^{1,2}, Hiroaki Harada¹, Toshiaki Shimizu¹, Meiko Maeda⁵, Akatsuki Kubota⁵, Tatsushi Toda⁵, Hiroaki Hatano^{1,3}, Yusuke Sugimori¹, Kimito Kawahata⁶, Kazuhiko Yamamoto⁴, Hirofumi Shoda¹, Kazuyoshi Ishigaki³, Mineto Ota^{1*}, Tomohisa Okamura^{1,2*}, Keishi Fujio^{1*}

Goto et al., Sci. Immunol. 9, eadk1643 (2024)

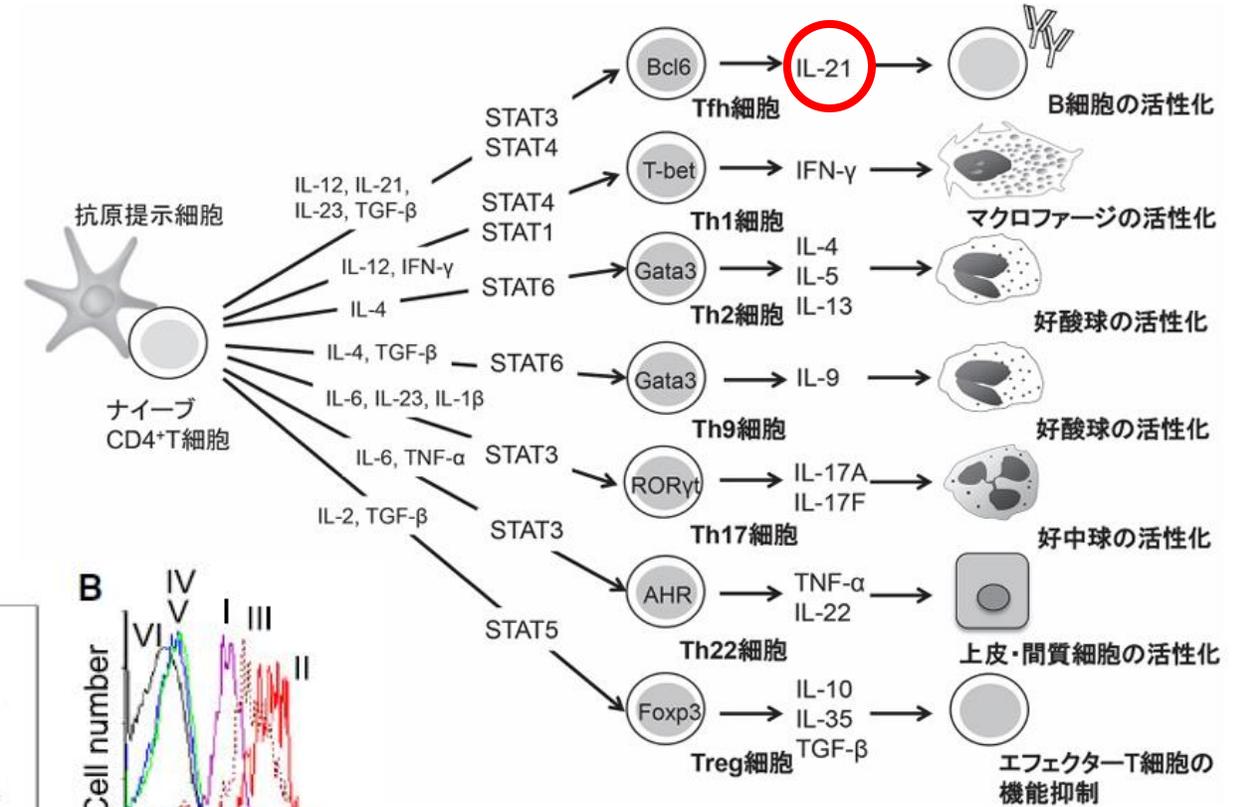


図1 ヒトヘルパーT細胞の分化と機能
中山田 Jpn. J. Clin. Immunol., 39 (1) 1~7 (2016)

全部で54 figuresもあって説明しきれないので、本JCではKey figuresのみとりあげました

[Immunity 2009; 30:899-911]

ImmuNexUT database

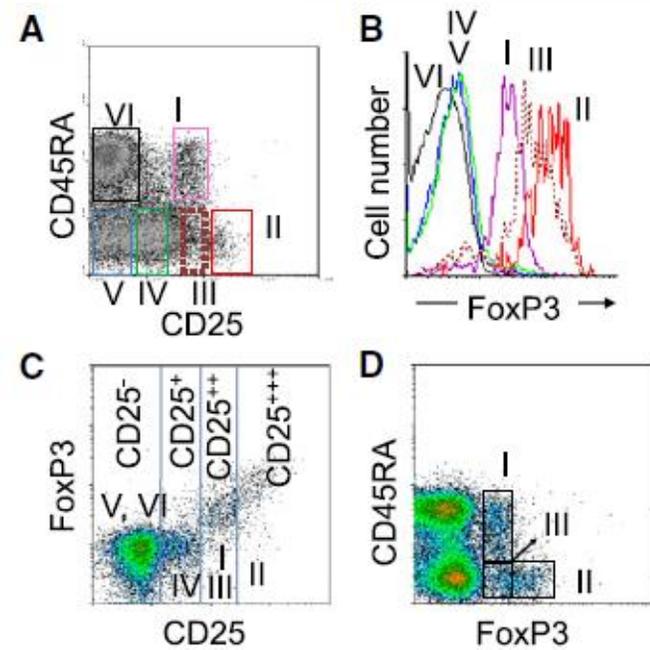
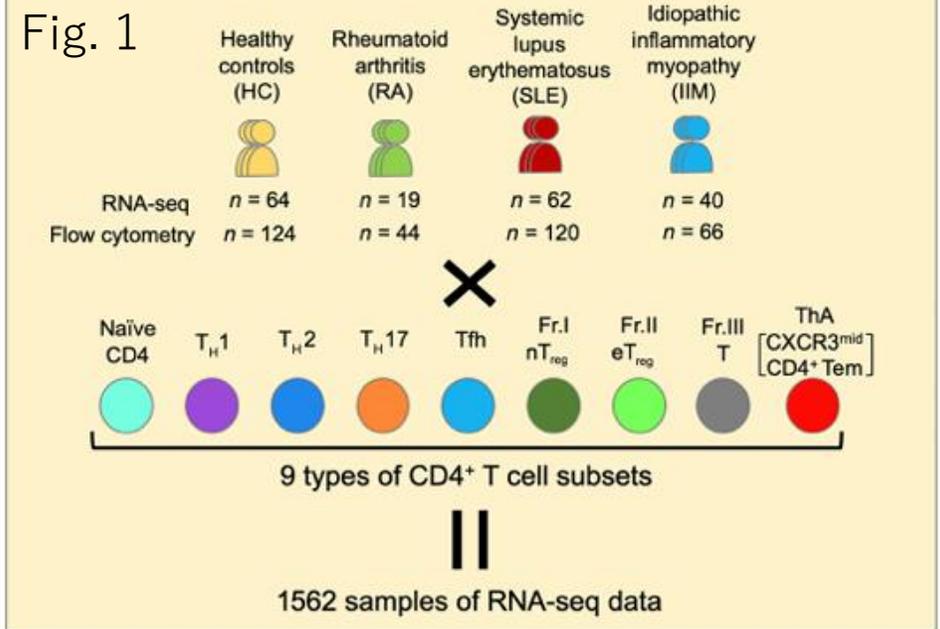


Fig. 1

イントロ

• 自己抗体産生と関連する細胞：

Tfh (CD4+CXCR5+, CXCL13とIL-21を産生)

Tph (CD4+CXCR5-PD1++, CXCL13とIL-21を産生)

DN2 (double negative 2: CD27-IgD-CXCR5-) B細胞

≡ABC (age associated B cells: CD11c+) B細胞

• 細胞障害性T細胞(CTL)はCD8+が有名だが、CD4+CTLもあり、自己免疫とも関連

• ImmuNexUT: 種々の免疫細胞の遺伝子発現とゲノムデータを揃えた東大データベース

• 本研究で新たなTh subsetであるThAを発見。加齢で増え、自己免疫疾患で増え、抗体産生を助け、CTL活性を持ち、SLE活動性と関連し、CNIで阻害される

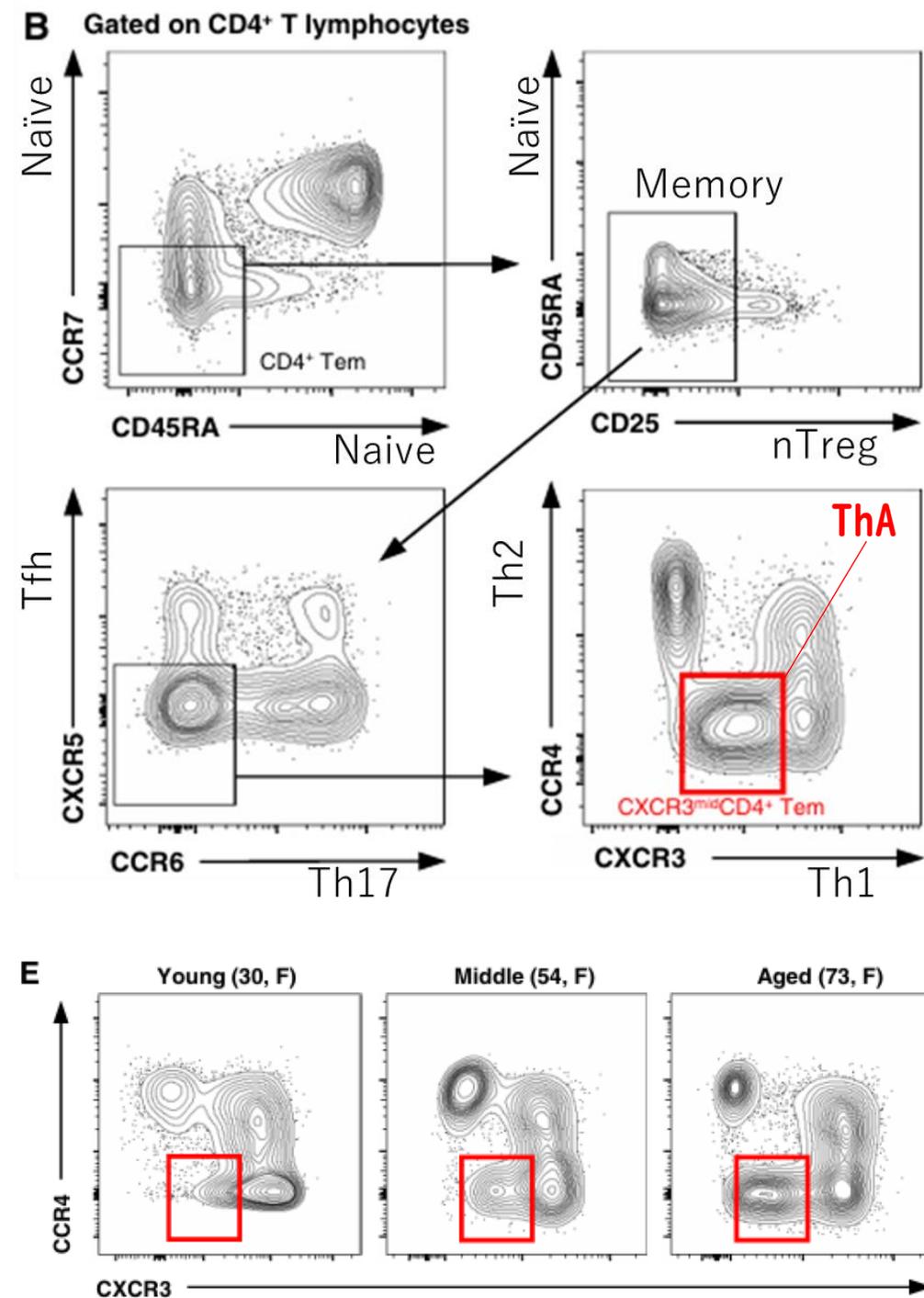
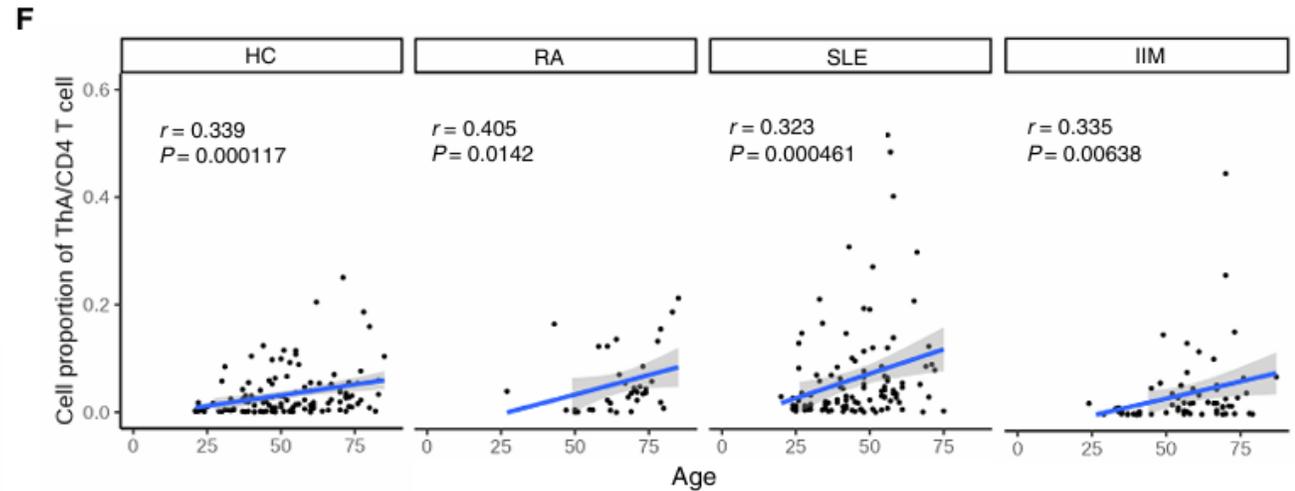
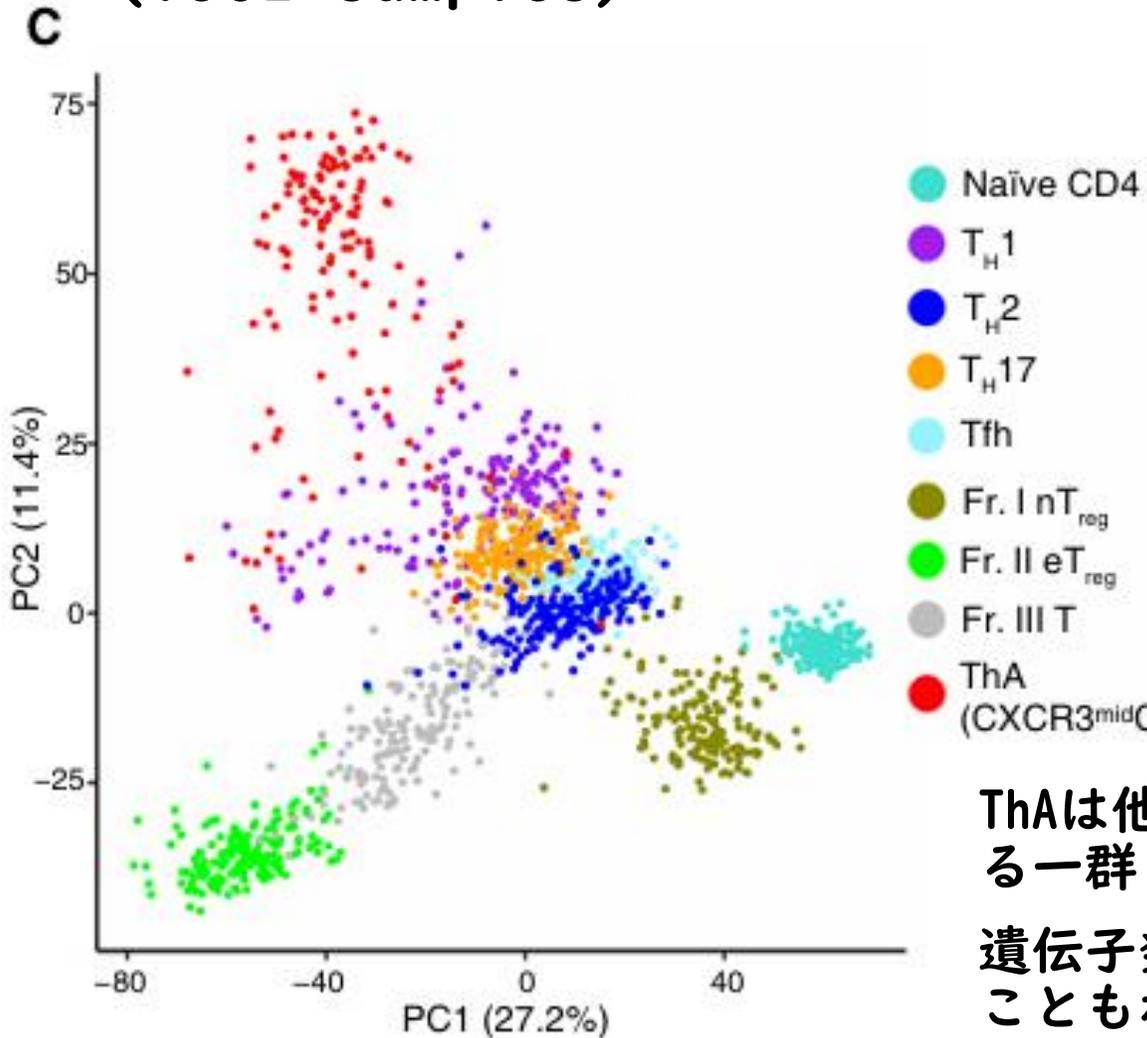


Fig. 1

Principal Component Analysis (PCA) of total RNA-Seq data (1562 samples)



ThAはHC, RA, SLE, IIMいずれでも加齢に伴い増加する

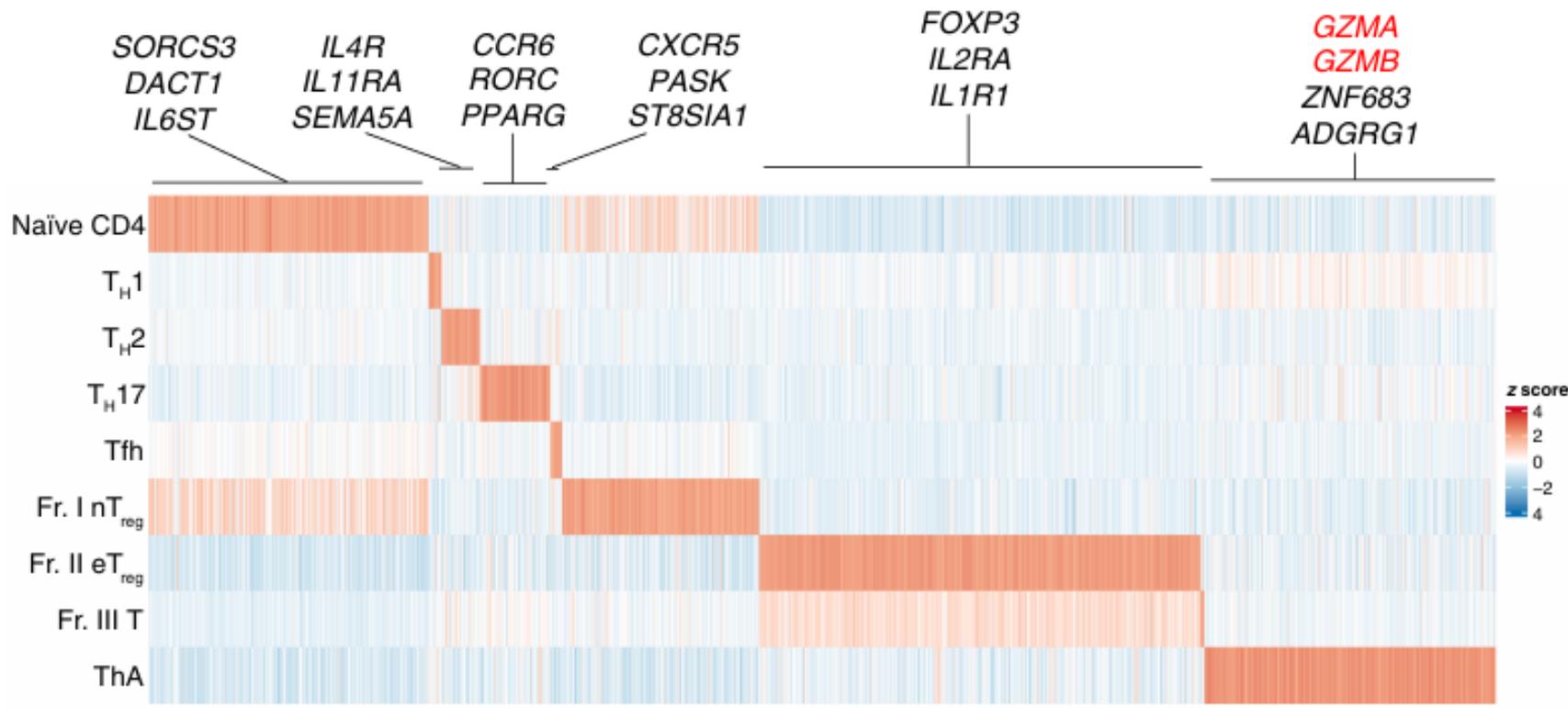
ThAは他のT細胞サブセットと異なる遺伝子発現をする一群とわかる。

遺伝子発現様式から最も近い細胞集団はTh1であることもわかる。

Fig. 2

ThAはCTLの性質をもっている

A



SEG (specifically expressed genes)解析
 ThA特異的に発現する遺伝子にCTLで発現がみられる
 グランザイムA, Bなどが含まれる
 ZNF683はCD4+CTL特異的な転写因子
 ADGRG1は細胞障害に関連する分子GPR56をcodeする

ThAは蛋白としてのGZMA, GZMB, パーフォリンをCD8T細胞同様に発現する

D

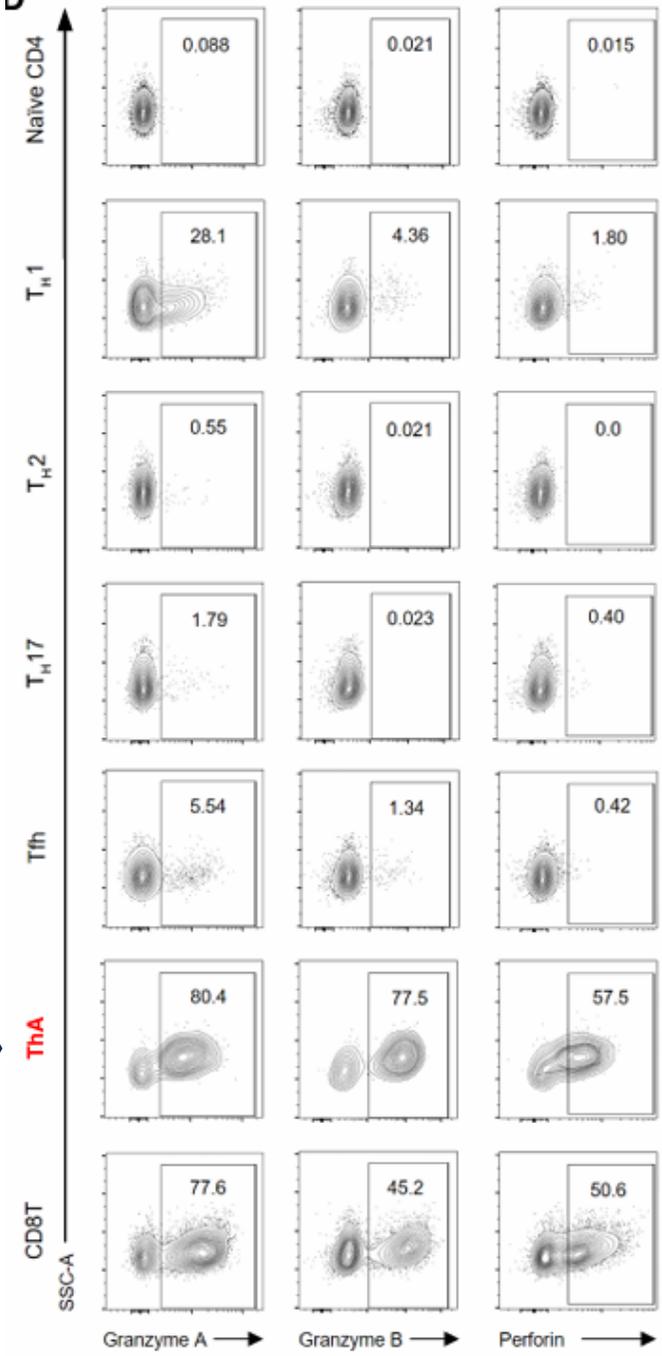
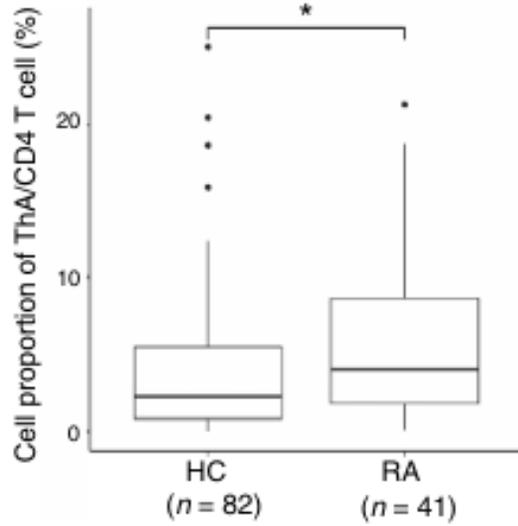


Fig. 3

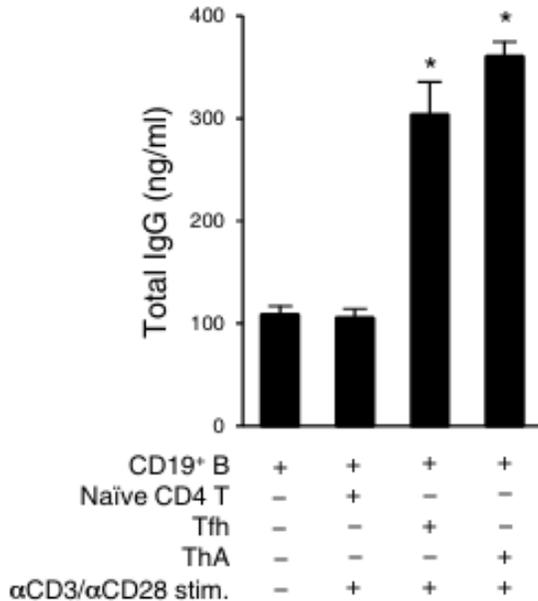
ThAはCTLの性質をもっている(RA患者サンプル)

A



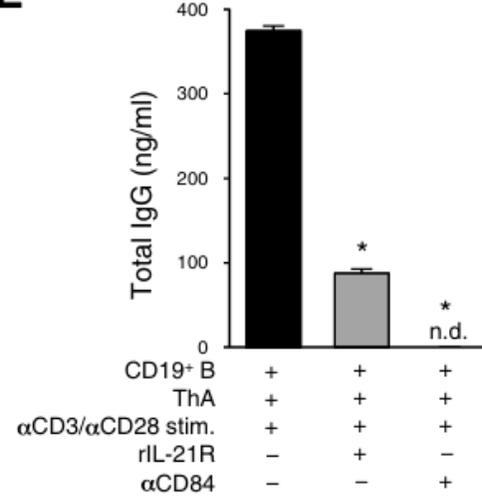
RAはThAの割合がHCより多い

D

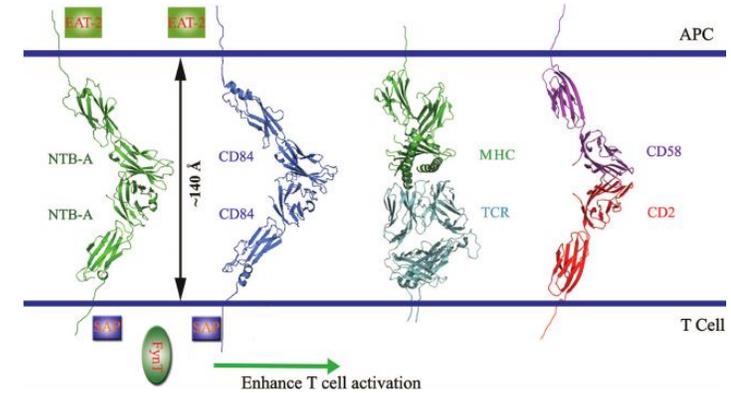


B細胞との共培養でIgG産生をヘルプするのはTfhとThA

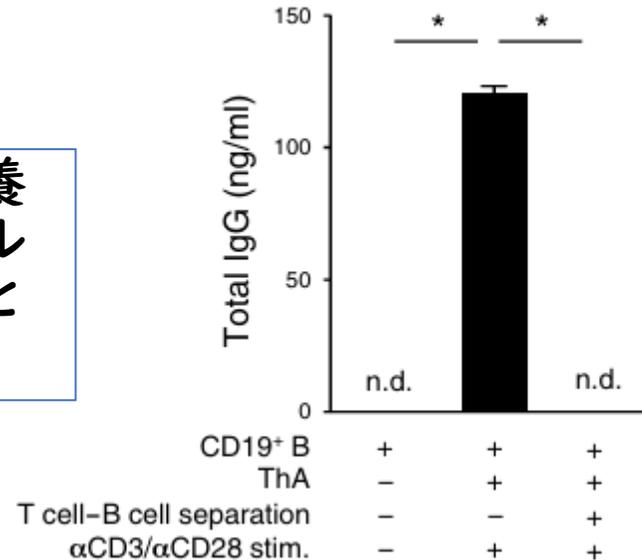
E



ThAのB細胞ヘルプにはIL-21やCD84からのシグナルが必要 (blocking実験)



F



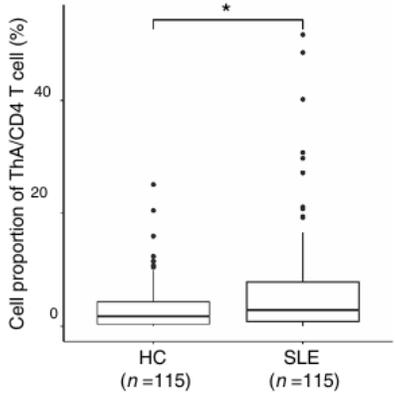
ThAのB細胞ヘルプには細胞接着が必要 (by transwell実験)

PNAS 2007, 104: 10583

Fig. 3

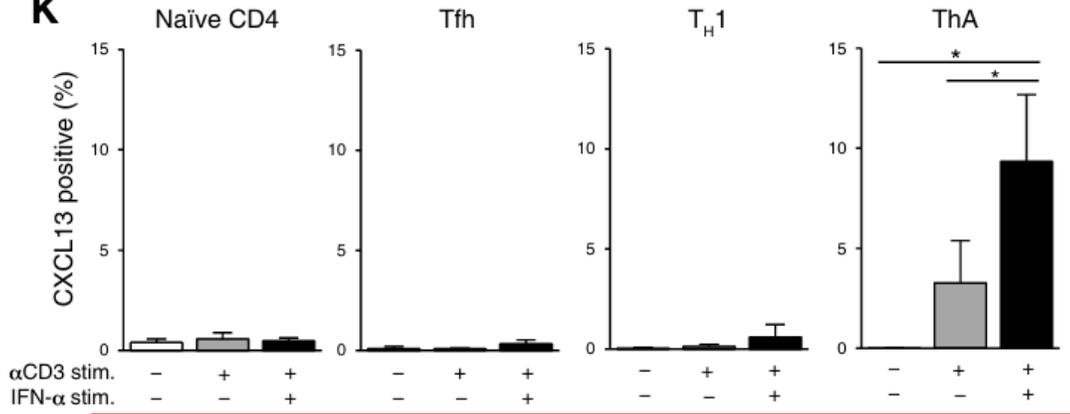
SLE患者のThAと疾患活動性の関連

G



SLEはThAの割合がHCより多い

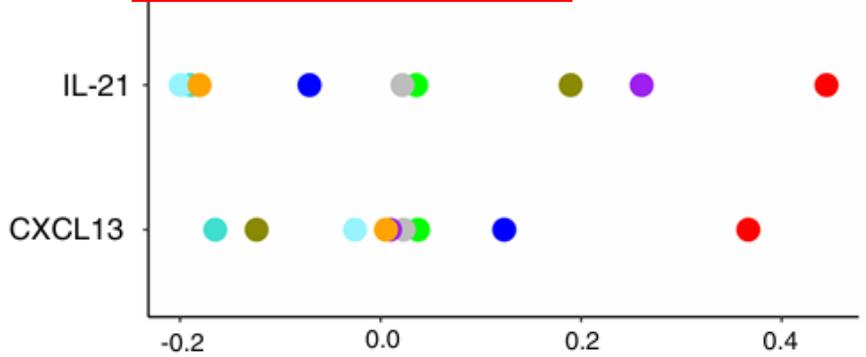
K



ThAにIFNaを添加するとより活性化 (CXCL13産生)

I

Correlation to SLEDAI_2K

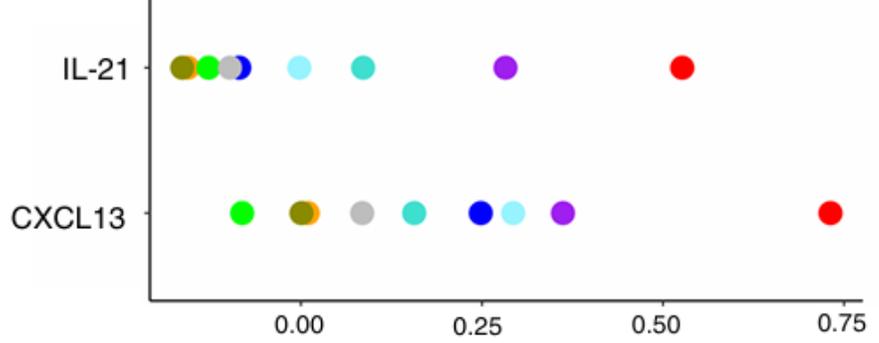


- Fr. I nT_{reg}
- Fr. II eT_{reg}
- Fr. III T
- Naive CD4
- Tfh
- T_H1
- T_H17
- T_H2
- ThA

各T細胞サブセットにおける遺伝子発現 (IL-21 or CXCL13) とSLEDAIとの相関係数

J

Correlation to ISG score (in patients with SLE)

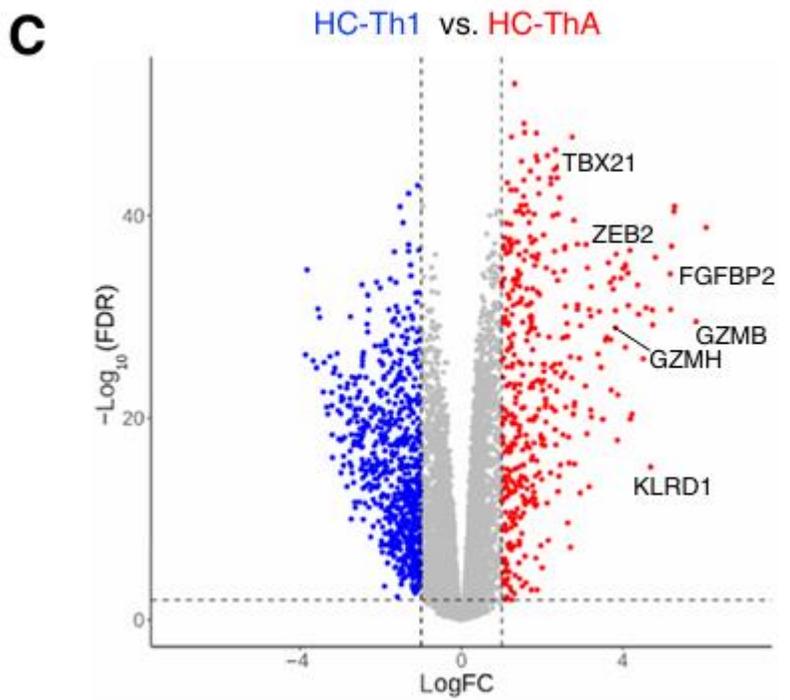


- Fr. I nT_{reg}
- Fr. II eT_{reg}
- Fr. III T
- Naive CD4
- Tfh
- T_H1
- T_H17
- T_H2
- ThA

各T細胞サブセットにおける遺伝子発現 (IL-21 or CXCL13) とI型IFN刺激遺伝子 (ISG) signature scoreとの相関係数

Fig. 4

ThA特異遺伝子検索とその機能解析



2つの転写因子の機能を明らかにするためにCell lineを用いたtransfection実験を行った

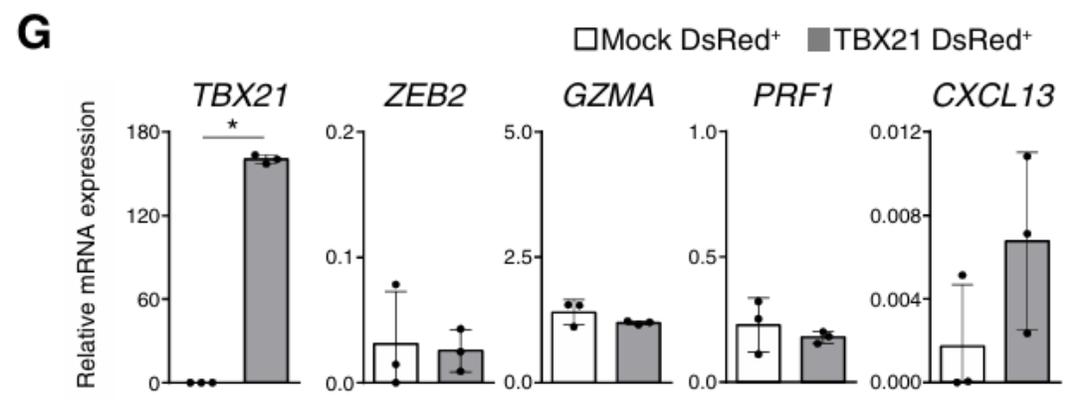
ThAのsignature genesを検索した by 比較的性質の近いTh1とThAを比較しDEG (differentially expressed genes)を图示

2つの転写因子が見つかった

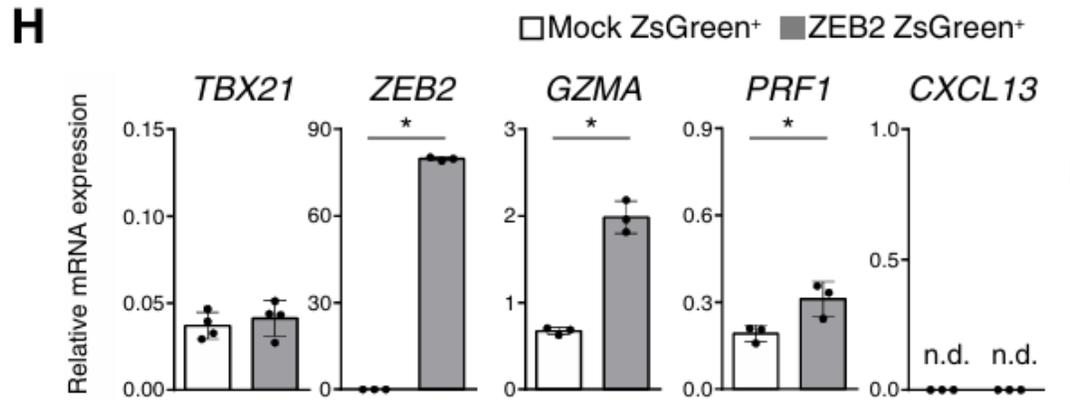
ZEB2 (CTL活性に関連する)

TBX21 (T-bet) Th1のmaster遺伝子とされていたが、ThAではTh1の5倍も発現している

Jurkat T細胞にTBX21をoverexpressionさせるとCXCL13の発現が上昇する



Jurkat T細胞にZEB2をoverexpressionさせるとGZMAの発現が上昇する



PRF1: perforin遺伝子

Jurkat T細胞にTBX21とZEB2をoverexpressionさせるとCXCL13とGZMA、PRF1の発現が上昇する(ThAの性質をもつ)

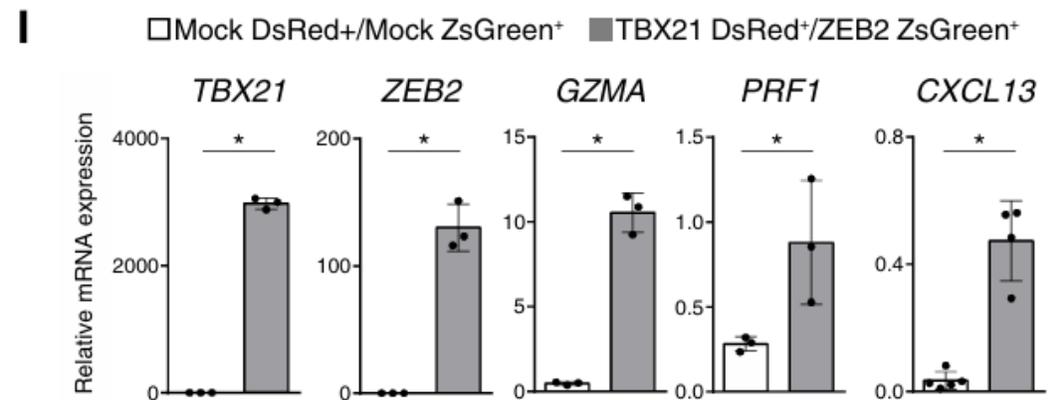
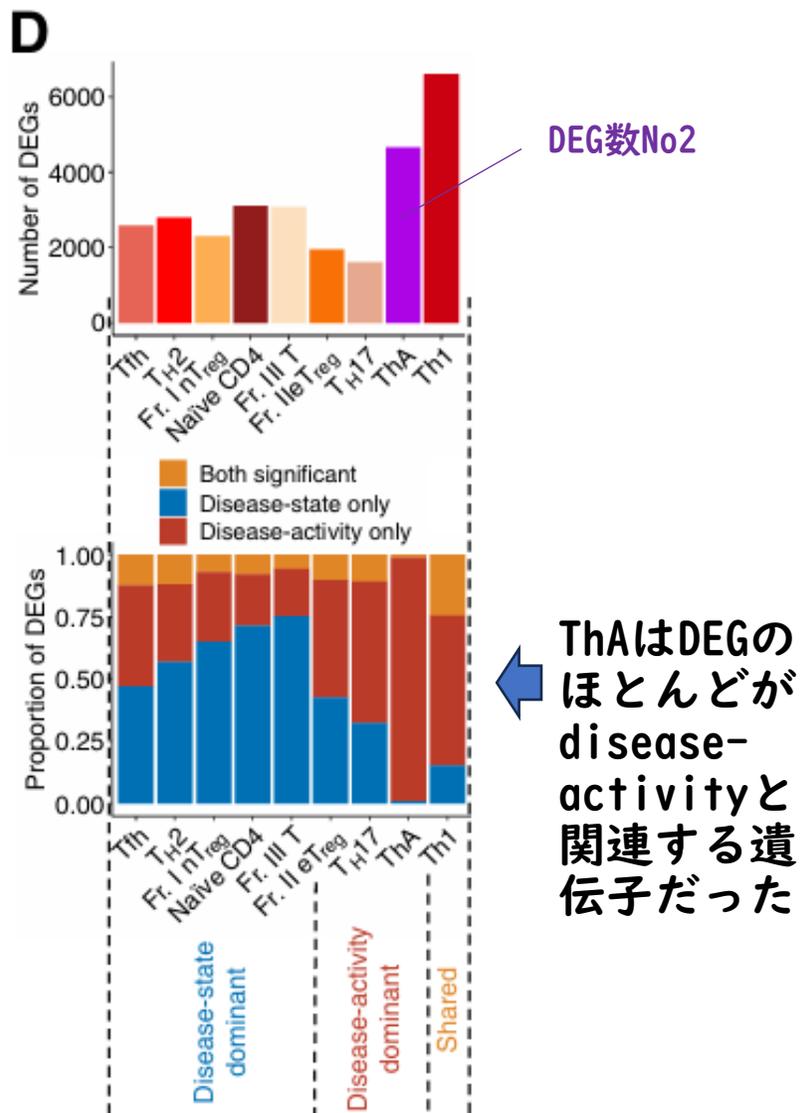


Fig. 5

SLE関連遺伝子とThA

Disease-state (寛解SLE vs HC)と**Disease-activity** (活動性SLE vs 寛解SLE)の**DEG** (differentially expressed genes)の数と比率をT細胞サブセット毎に示した

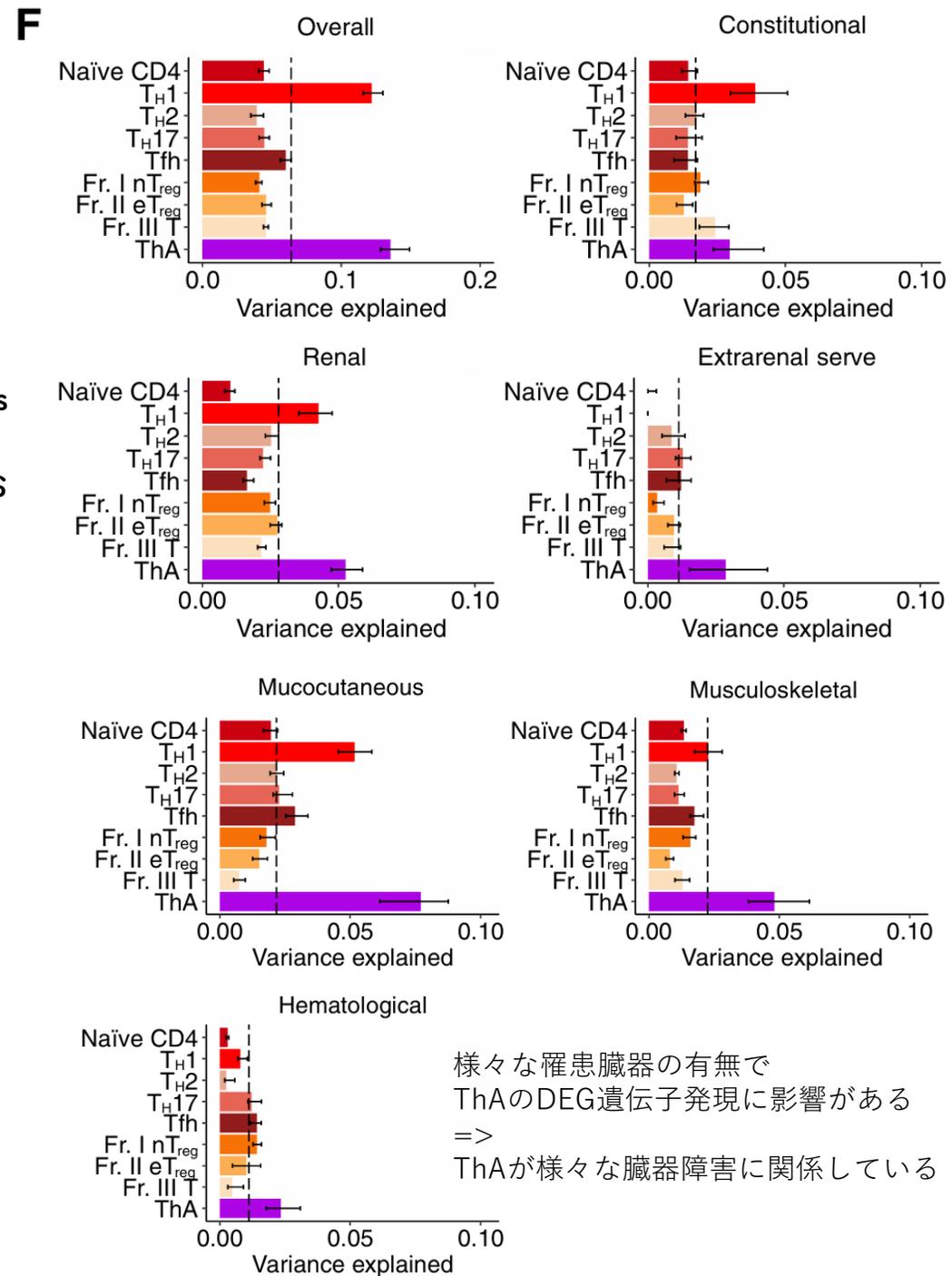


DEG数No2

Weighted variance partitioning analysis (多変量解析の一種)

各T細胞サブセットにおいて疾患活動性と罹患臓器によって 遺伝子発現の違いを説明できる程度を示している

ThAはDEGのほとんどが disease-activityと関連する遺伝子だった

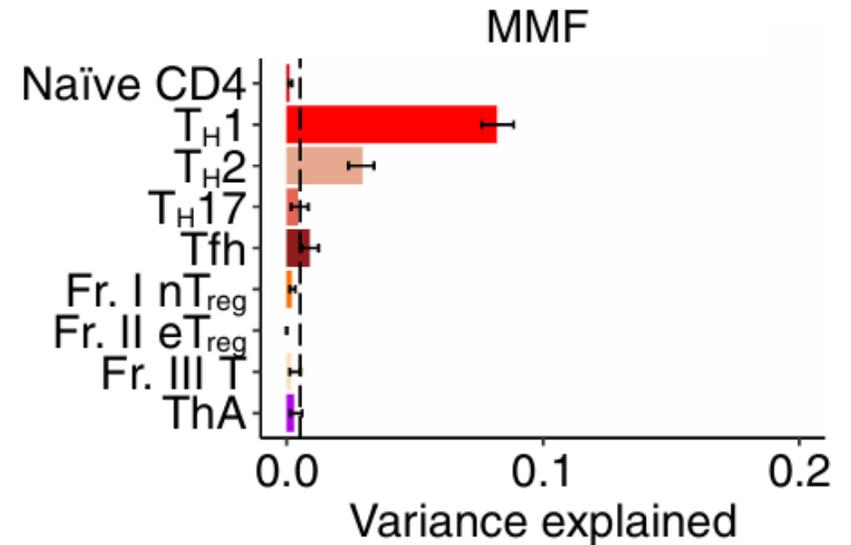
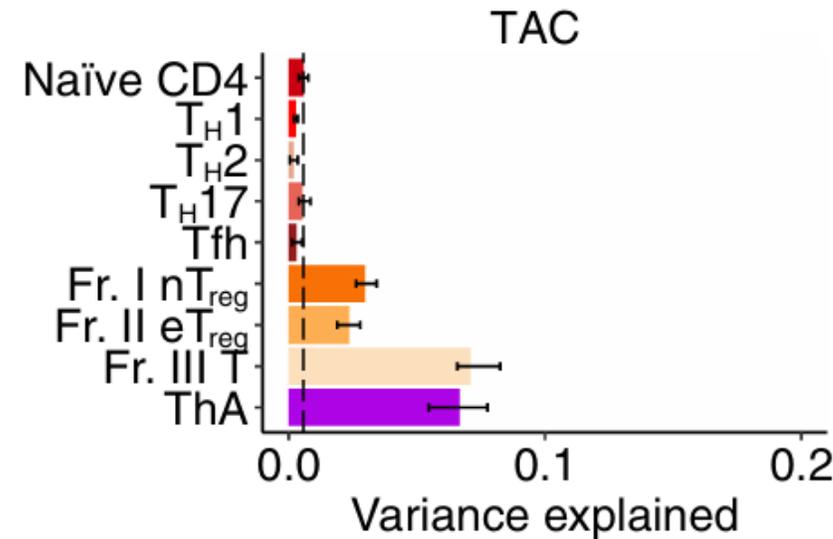
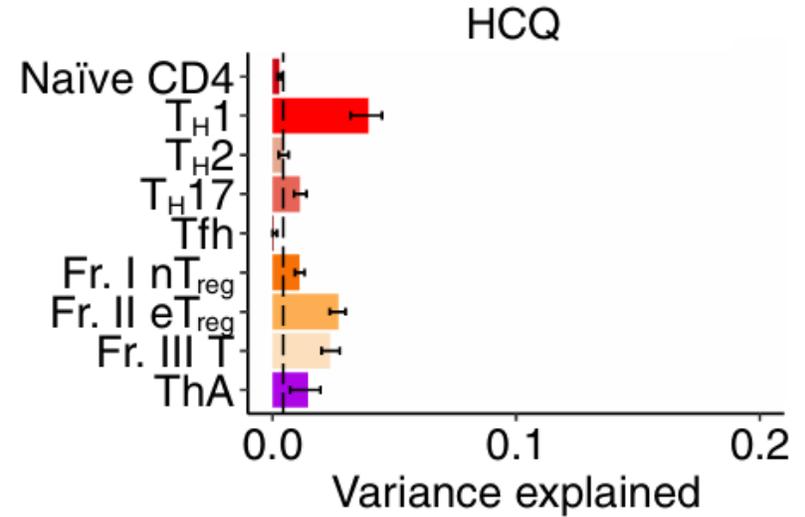
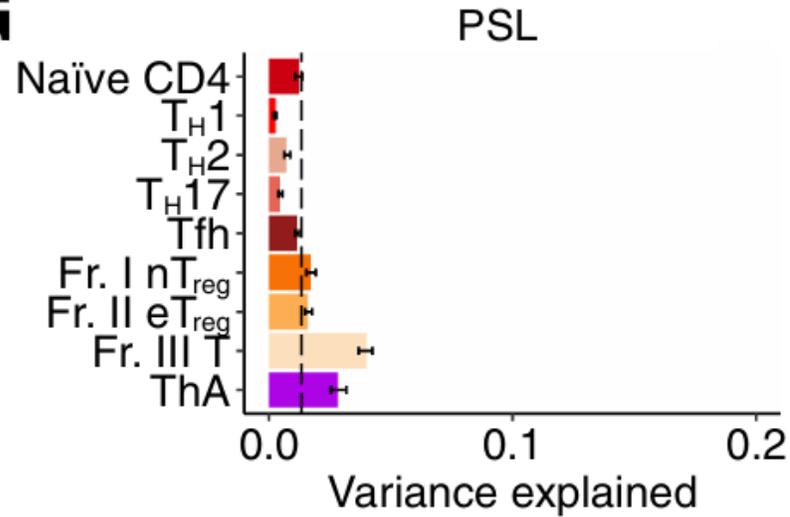


様々な罹患臓器の有無で ThAのDEG遺伝子発現に影響がある => ThAが様々な臓器障害に関係している

Fig. 5

各T細胞サブセットにおけるSLE関連遺伝子発現の薬剤による影響

G



Weighted variance partitioning analysis (多変量解析の一種)

各T細胞サブセットにおいて疾患活動性と使用薬剤によって遺伝子発現の違いを説明できる程度を示している

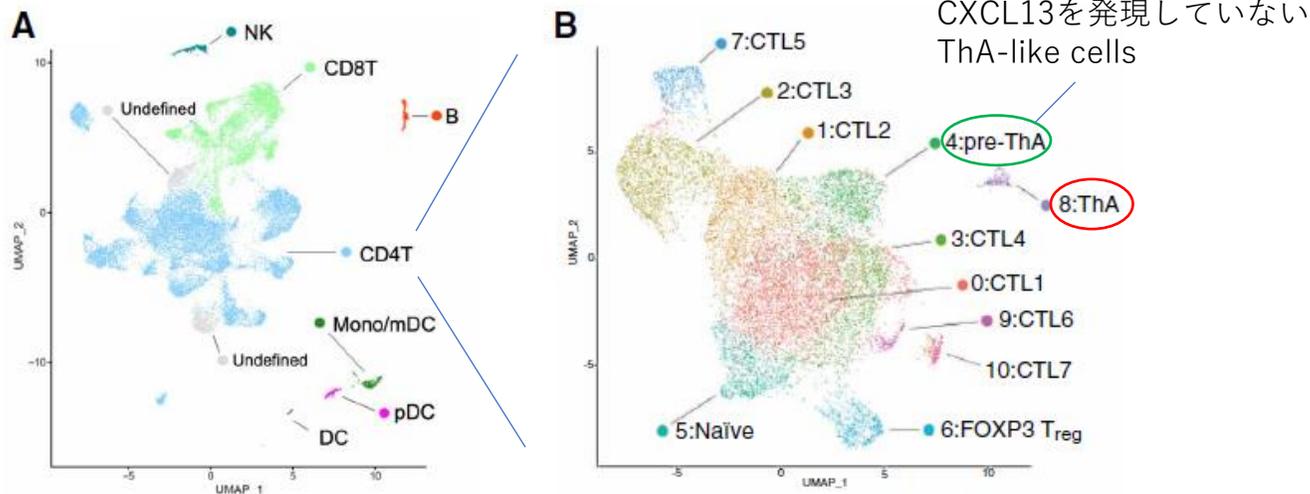
ThAの遺伝子発現に影響する薬剤
: TAC > PSL > HCQ

Th1の遺伝子発現に影響する薬剤
: MMF > HCQ

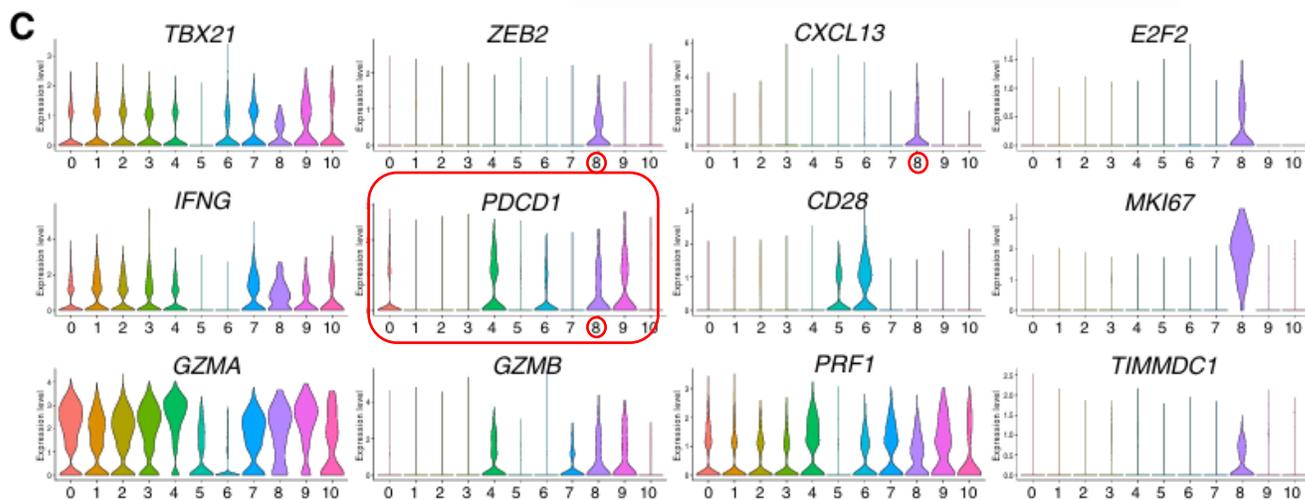
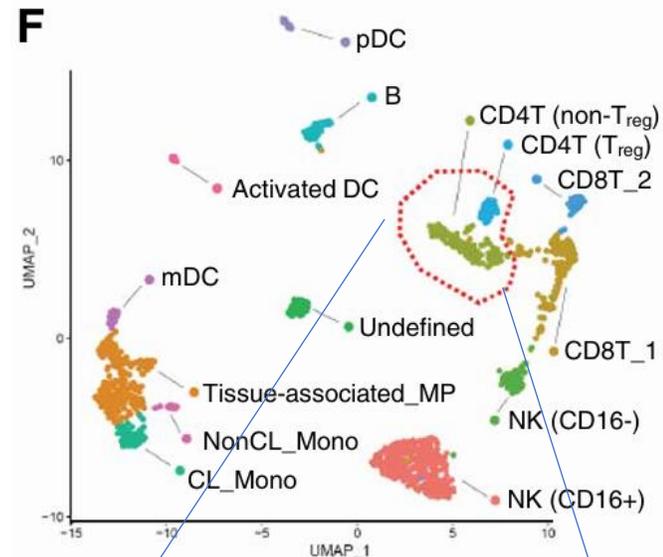
Fig. 6

ILD合併抗ARS抗体(+)筋炎のBALF or 筋肉中のThA解析

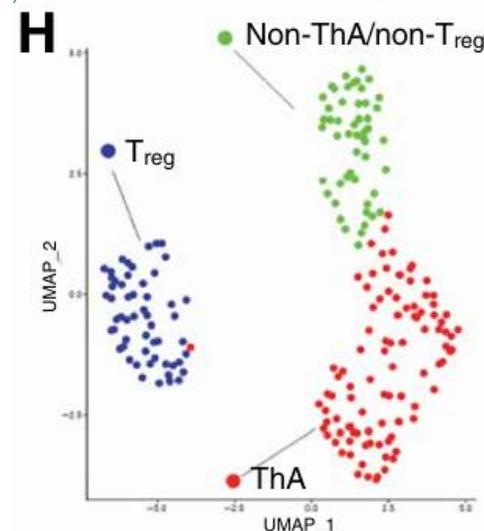
BALF中CD45+細胞のsingle cell RNA-Seq解析



筋肉内CD45+細胞のsingle cell RNA-Seq解析



CD4+ T細胞



ThA:
CXCL13
GZMA両方を発現

PDCD1: PD1; E2F2, MK167: proliferation markers; TIMMDC1: mitochondrial関連遺伝子

Discussion

まとめ

- ・加齢と関連する新しいCD4+ T cell populationを発見した (ThAと名付けた)
- ・CXCR3^{mid}CD4⁺Tem (Tem: T effector memory)のphenotypeで他のPhとoverlapしない
- ・CD4+CTLとTphの両側面をもち、ZEB2によって制御される
- ・SLE関連ThA細胞の遺伝子発現profileは疾患活動性と強く関連し、CNIの標的となっている
- ・加齢と自己免疫の関連にメスを入れる発見になり得、SLEのprecision medicineに繋がるかも

MMF+TACのmulti-target therapyにおいて、それぞれTh1, ThAに効いていることを示した

ThA-likeな細胞はCD27-CD28-CD4+Tem (elderly)、CD28-CD4+CTL (SSc)、CD28-CD27-CD4+TemZEB2+ (IgG4RD)、CD4+CTL ZEB2+TBX21+GZMA+ (Graves)など報告あり

ThAとTh1は共通originから分化している可能性 (TBX21発現、似たTCR repertoireなど)

TphとThAの異同 (ともにextrafollicular Th)について。IIM-ILDのBALF scRNA-Seq解析ではPDCDIを発現する複数のCD4+ T cell clustersの中でCXCL13を発現するのはThAのみだった。

ThAはTphの一部をみている可能性も。RA滑膜でのTphはT-betを発現し、SLEでCXCR3+TphはTph1と呼ばれ、ThAと似ているもののThAはCD28negでTphはCD28+である点やFACS profile (CXCR3の発現量)の違いからTphとThAは異なると結論づける