

Interferon subverts an AHR–JUN axis to promote CXCL13⁺ T cells in lupus

<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07627-2>

Received: 11 May 2023

Accepted: 30 May 2024

Published online: 10 July 2024

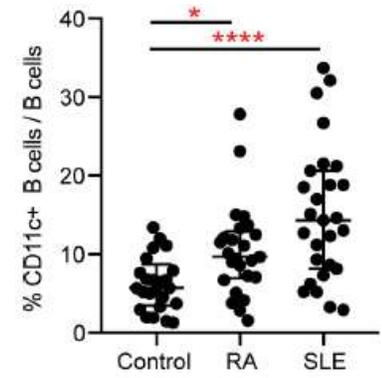
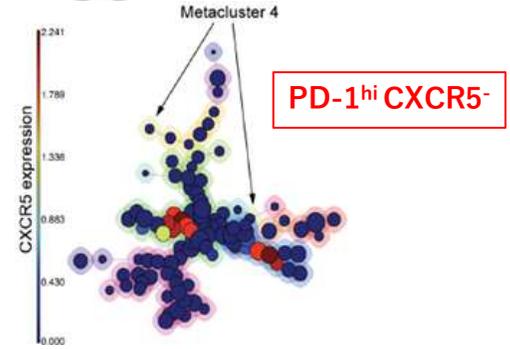
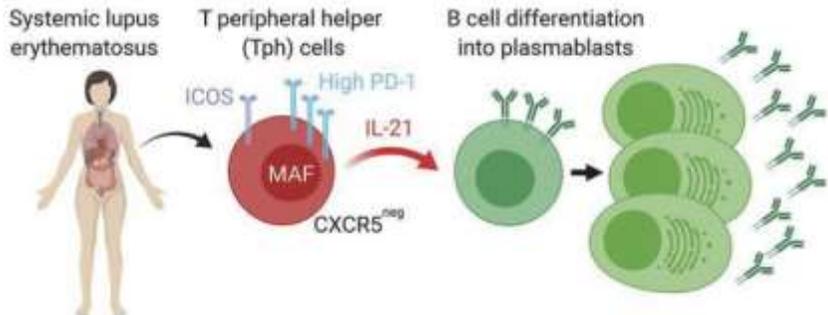
 Check for updates

Calvin Law^{1,2,3,4,5,47}, Vanessa Sue Wacleche^{6,47}, Ye Cao^{6,47}, Arundhati Pillai^{1,2,3,4,5}, John Sowerby⁶, Brandon Hancock^{1,2,3,4,5}, Alice Horisberger⁶, Sabrina Bracero⁶, Viktoriya Skidanova⁶, Zhihan Li⁶, Ifeoluwakiisi Adejorin⁶, Eilish Dillon⁶, Isaac J. Benque⁶, Diana Pena Nunez⁶, Daimon P. Simmons^{6,15}, Joshua Keegan⁷, Lin Chen⁶, Tina Baker⁸, Phillip Z. Brohawn⁸, Hussein Al-Mossawi⁹, Ling-Yang Hao¹⁰, Brian Jones¹⁰, Navin Rao¹⁰, Yujie Qu¹¹, Stephen E. Alves¹¹, Accelerating Medicines Partnership: RA/SLE Network*, A. Helena Jonsson^{6,12}, Katharina S. Shaw¹³, Ruth Ann Vleugels¹³, Elena Massarotti⁶, Karen H. Costenbader⁶, Michael B. Brenner⁶, James A. Lederer⁷, Judd F. Hultquist¹⁴, Jaehyuk Choi^{1,2,3,4,5,48}✉ & Deepak A. Rao^{6,48}✉

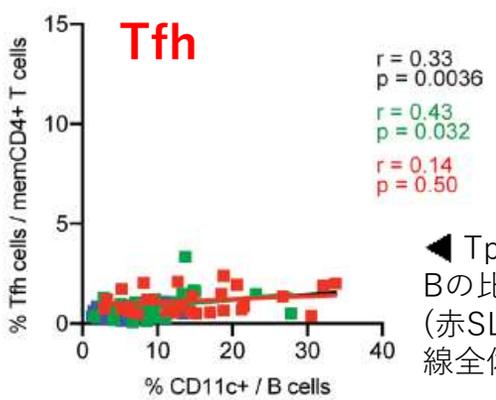
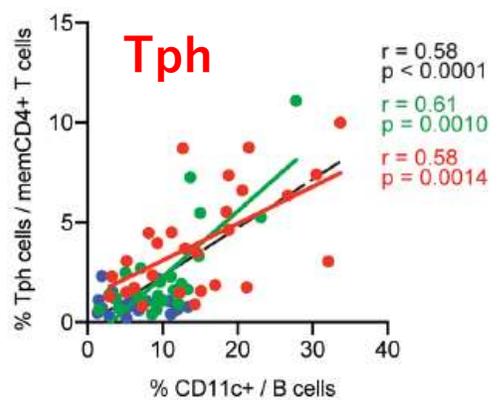
[Nature. 2024 Aug;632(8025):E6.]

SLEとTpH (AMP-SLE)

PD-1^{hi}CXCR5⁻ T peripheral helper cells promote B cell responses in lupus via MAF and IL-21 [JCI Insight. 2019;4(20):e130062.]



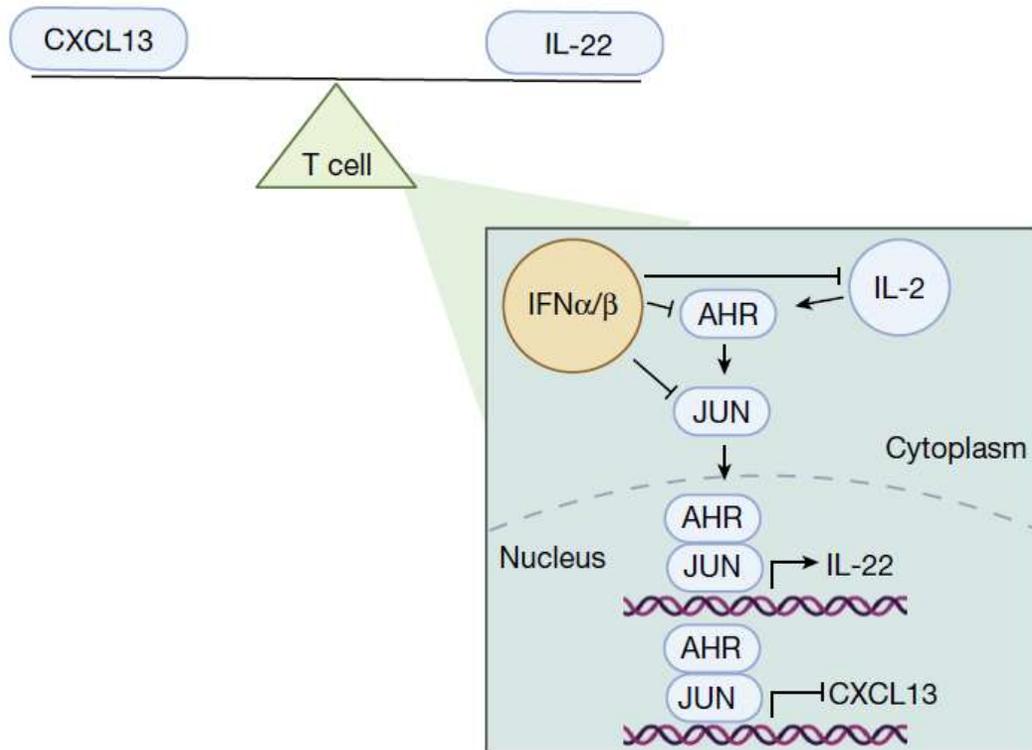
◀ CD11c⁺ B細胞は SLEで多い (ABC)



◀ Tphの比率はCD11c⁺ Bの比率と相関する (赤SLE, 緑RA, 青HC, 黒線全体)

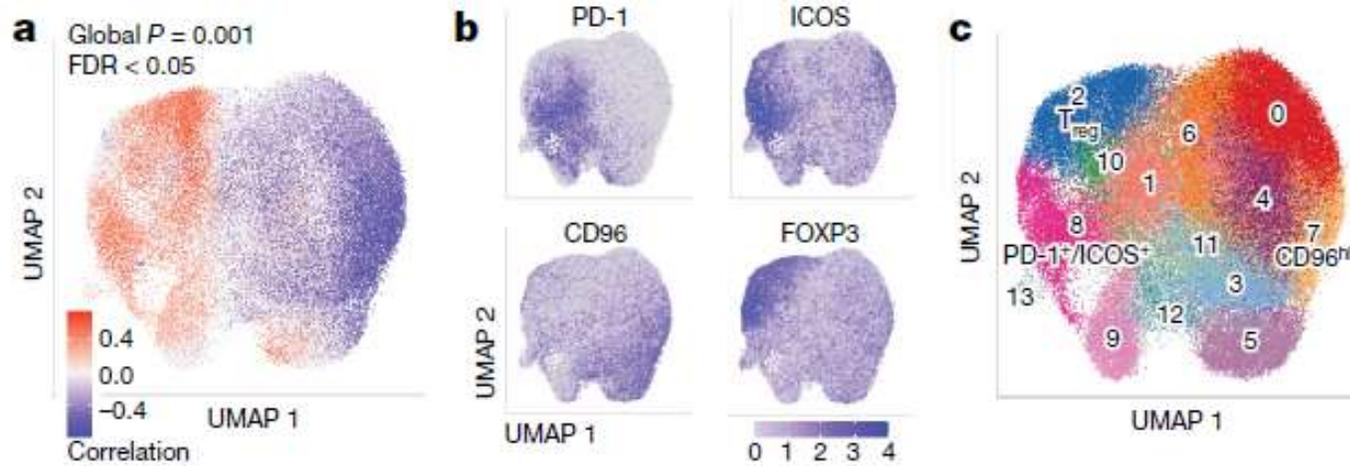
- AMP-SLEのPBMC-CD4⁺T解析(n 52)
- PD-1^{hi}CXCR5⁻CD4⁺ T cellがSLEで増加 → markerも, 機能的にもTph (IL-21を介しB細胞を活性化)
- Tph率は, 疾患活動性亢進と, CD11c⁺ B (ABC) の率と相関する (Tfhは相関せず)
- PD-L1^{hi}CD4⁺ Tは, LN腎臓中にもあり腎のB細胞数と相関する.
- IL-21中和かCRISPRでMAF除去すると, TphのPlasmablast誘導作用が減弱した.
- SLEではTphが増加し, pathologic Bを刺激する

Introduction

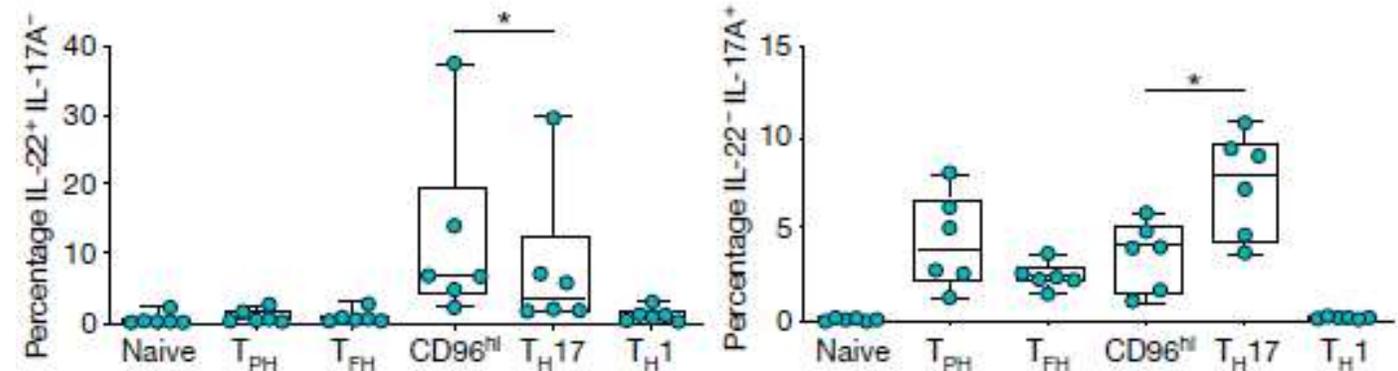
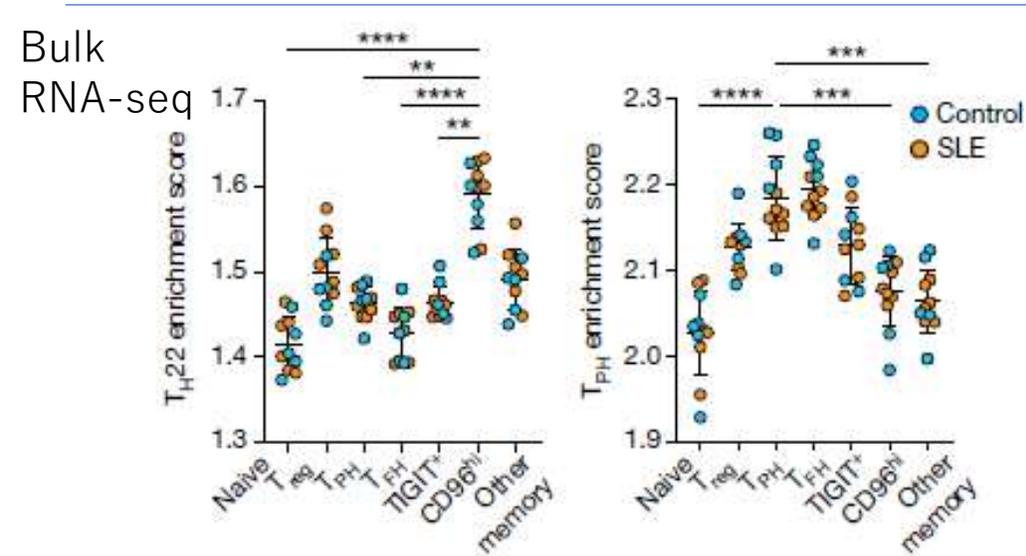


- SLEではB細胞をhelpするT細胞が増え、疾患活動性と相関する.
- Tfh: リンパ濾胞内でBをhelp
- Tph: 炎症下の末梢組織でBをhelp
- Tfh/Tph: IL-21 \uparrow , CD40L⁺, CXCL13 \uparrow
- Th22: Th17の特徴をもちながらIL-17よりIL-22を高く産生する分画
- CXCL13はCXCR5と結合するB細胞走化性因子
- CXCL13産生の制御機構は明らかになっていなかった. 既報ではTGF- β , IL-2, SOX4との関連が指摘されていた.

SLE末血でTph/Tfh (CXCL13⁺) ↑, Th22 (IL-22⁺) ↓



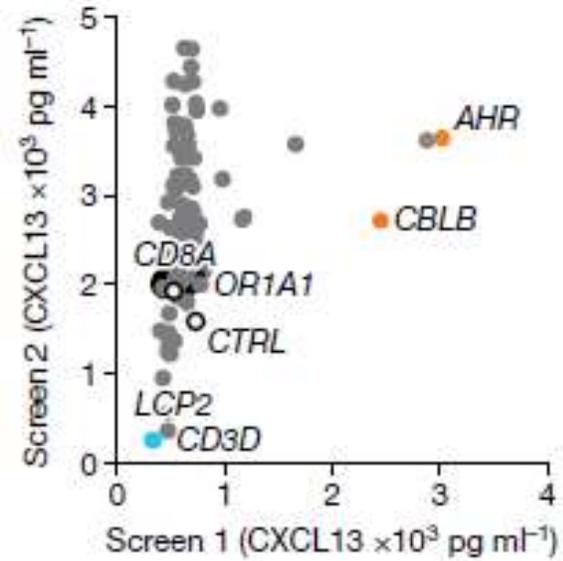
- SLE 19人のCD4⁺T細胞のmass cytometryをHCと比較
- SLE : PD-1⁺ICOS⁺ cell ↑ (Cluster 8, OR 2.8)
- HC : CD96^{hi} cell ↑ (Cluster 7, OR 0.3)



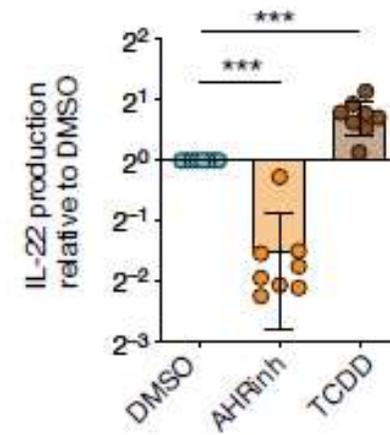
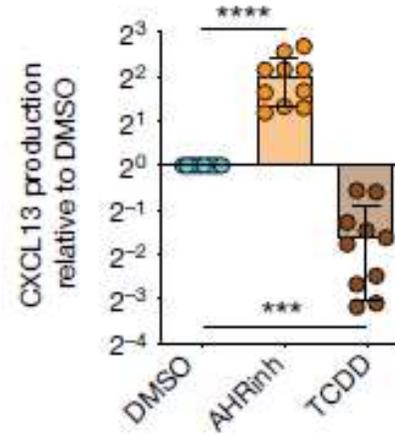
- Tph signatureはTph/Tfhで高い
- CD96^{hi}はTh22 signatureが高い

- HC 各subsetをin vitroで刺激→ IC FACS
- CD96^{hi}はIL-17A⁻IL-22⁺が多い

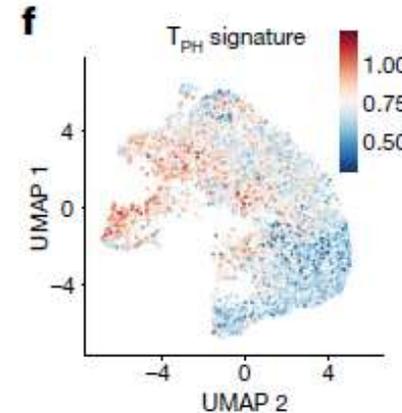
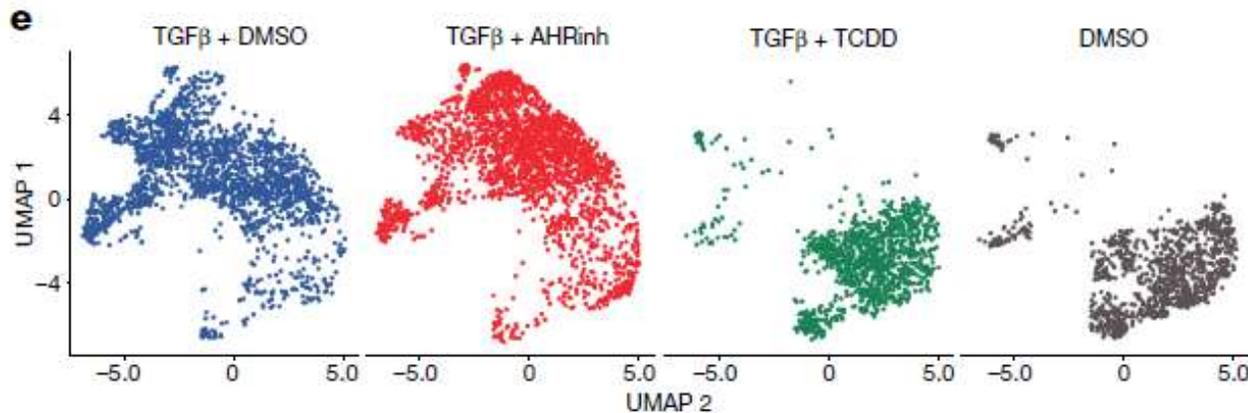
CRISPER screenでCXCL13分泌抑制因子同定: AHR



- HC memory CD4⁺Tの各遺伝子をCRISPRで欠失→ TGFβ 下で刺激
- 上清をCXCL13 ELISA
- **AHR**欠失でCXCL13↑
- AHRは, IL-22, Th22の既報ありfocusした.

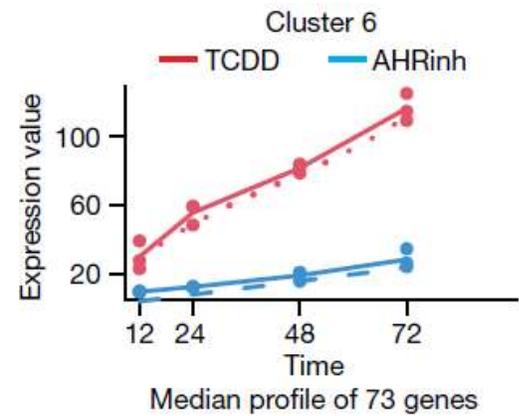


- TODD: AHR agonist
- AHRinh: AHR inhibitor
- HC total CD4⁺TをAHR agonist, inh下で刺激→ ELISA
- AHR阻害でCXCL13↑, IL-22↓
- AHR agonistで逆

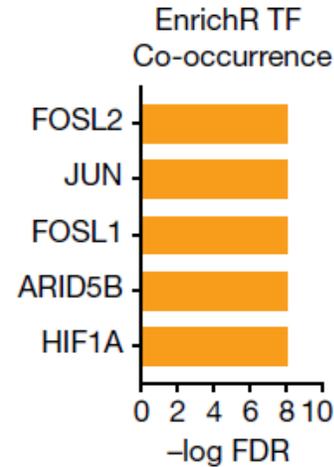


- Memory CD4 TをAHR inh, agonistとTGFβで刺激しscRNA-seq
- AHR agonistが, TGFβで誘導される遺伝子を阻害したことがわかる.

AHRはJUNと連携しCXCL13⁺TpHの分化を強く阻害



- AHR刺激memory CD4⁺のRNA-seqからAHR誘導遺伝子抽出 (cluster 6)
- AHR標的遺伝子 (CYP1B1, AHRR), CD96, IL22を含む

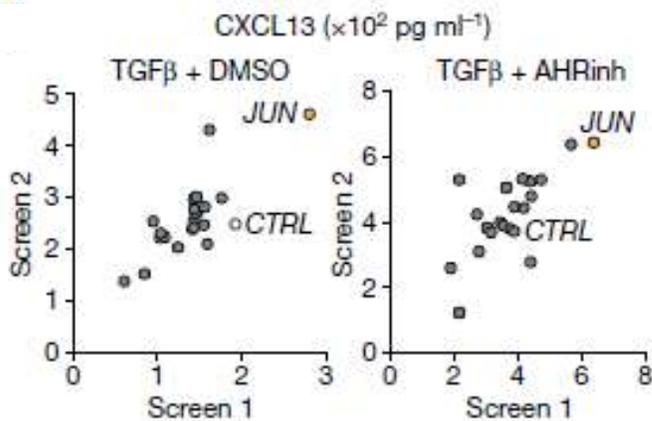


- Cluster 6は FOSL1/2, JUNが共存

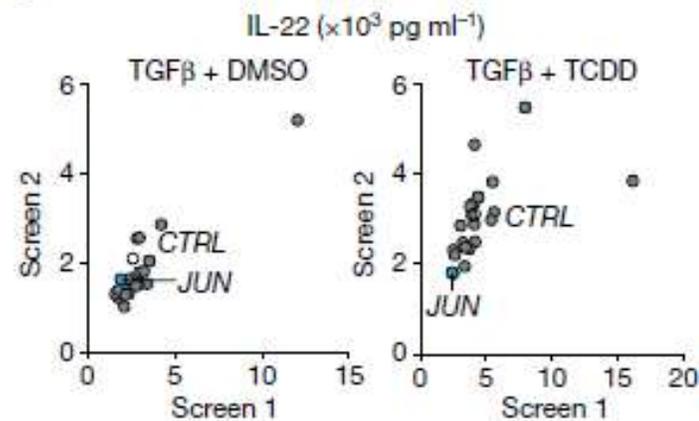
	AP1, Fra1(bZIP) Rank = 1, $P = 1 \times 10^{-37}$
	AP1, Fra2(bZIP) Rank = 2, $P = 1 \times 10^{-37}$
	Arnt:Ahr(bHLH) Rank = 3, $P = 1 \times 10^{-37}$
	AP1, Atf3(bZIP) Rank = 4, $P = 1 \times 10^{-35}$
	AP1, BATF(bZIP) Rank = 5, $P = 1 \times 10^{-33}$

AHRのBinding motifは, AP-1 TF familyと複数shareする

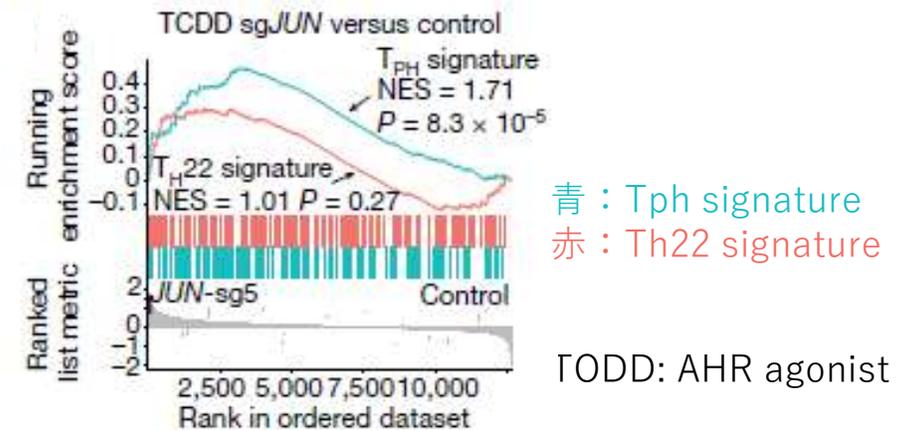
Array CRISPR screen (22のAP-1 tf familyをtarget)



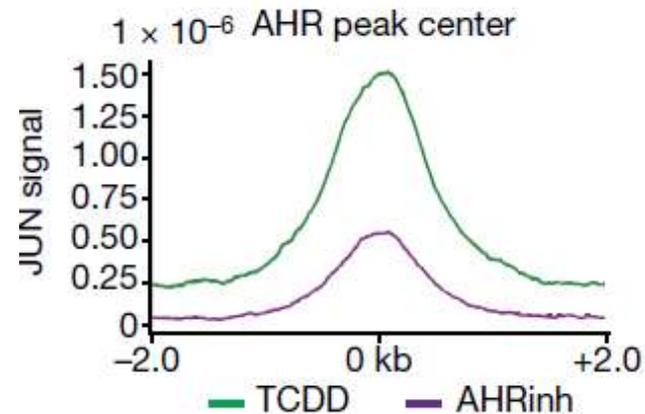
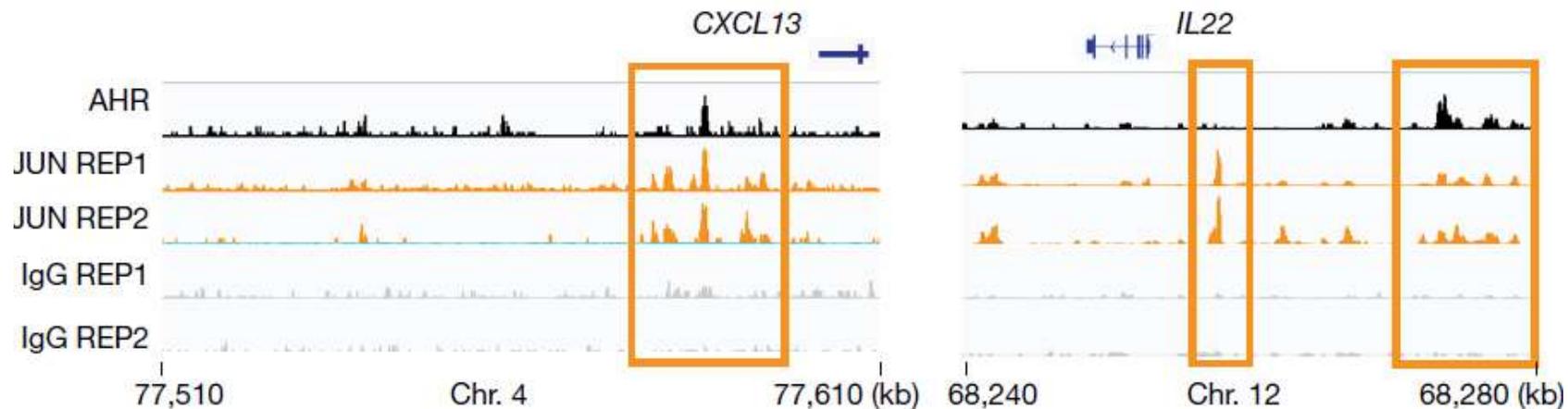
- AHRinhでCXCL13産生亢進
- **JUN欠失**がAHRinh効果↓



- AHR agonistでIL-22産生亢進
- **JUN欠失**がAHR agonist効果↓

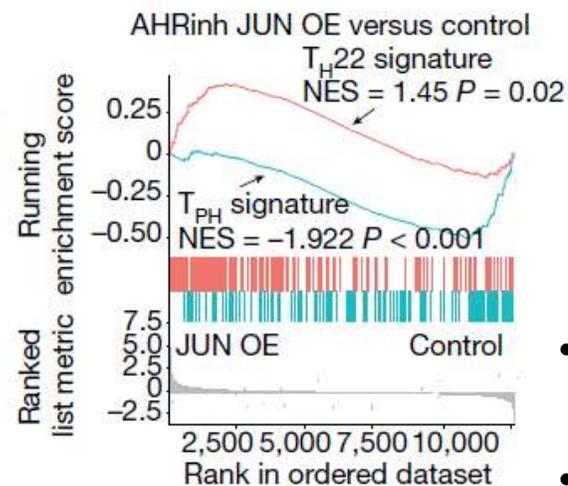
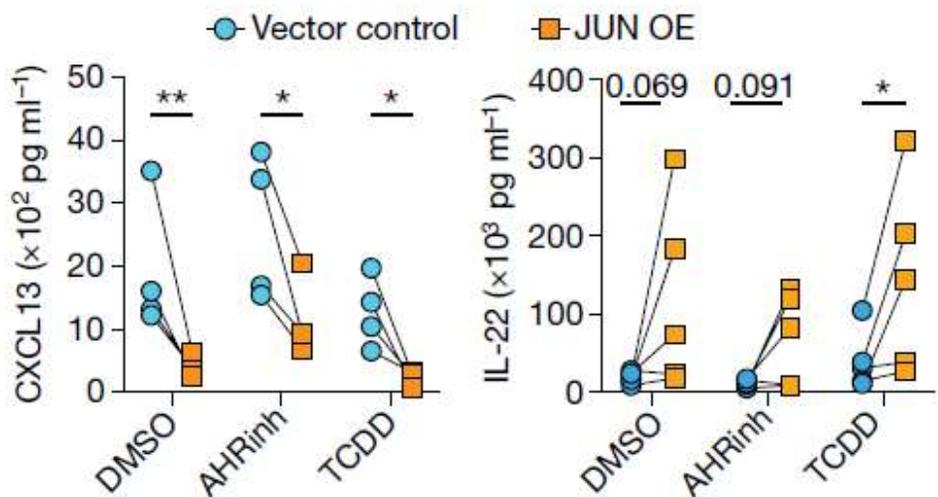


- JUN欠失細胞 vs ctrl (TODD+)のGSEA
- AHR agonistがあっても, JUNが欠失していれば, Tph signatureがenrichする



- AHR agonist (TODD) 処理した細胞の, AHRとJUNのbinding peak.
- CXCL13: AHRはJUNと同じ場所に結合する.
- IL22: AHRはenhancer領域に, JUNは同じenhancerと promoter領域に結合する.

JUNの結合peakは, AHR inhで減り, TODDで増える

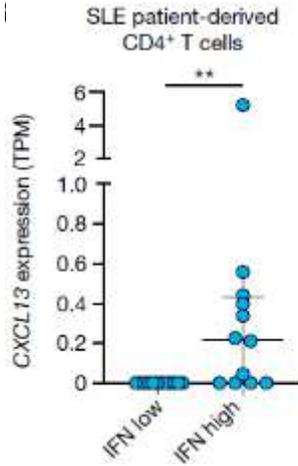


青 : Tph signature
赤 : Th22 signature

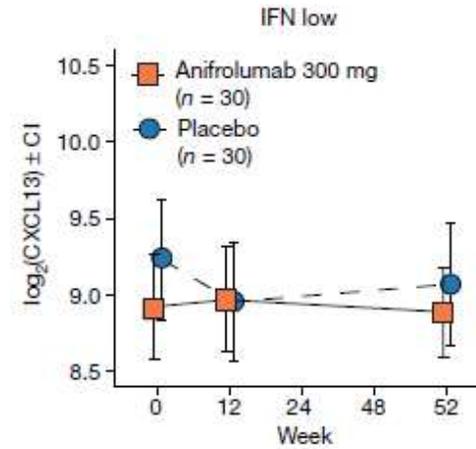
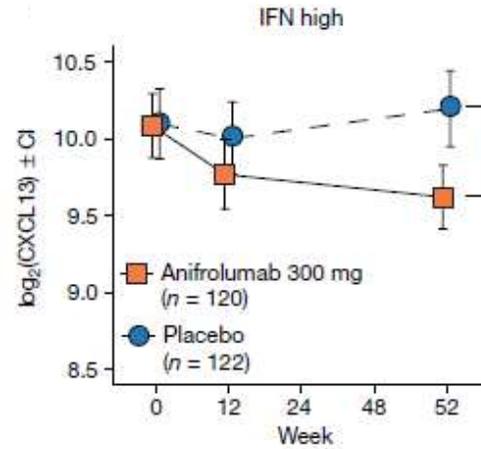
- JUN過剰発現細胞では, AHRinh下でもCXCL13産生が抑制される.
- JUN過剰発現細胞では, AHRinh下でもIL-22産生が亢進する.

- AHRinh投与下での JUN 過剰発現 vs ctrl
- GSEA : JUN過剰発現で Th22 signature がenrich, Tph signature が抑制

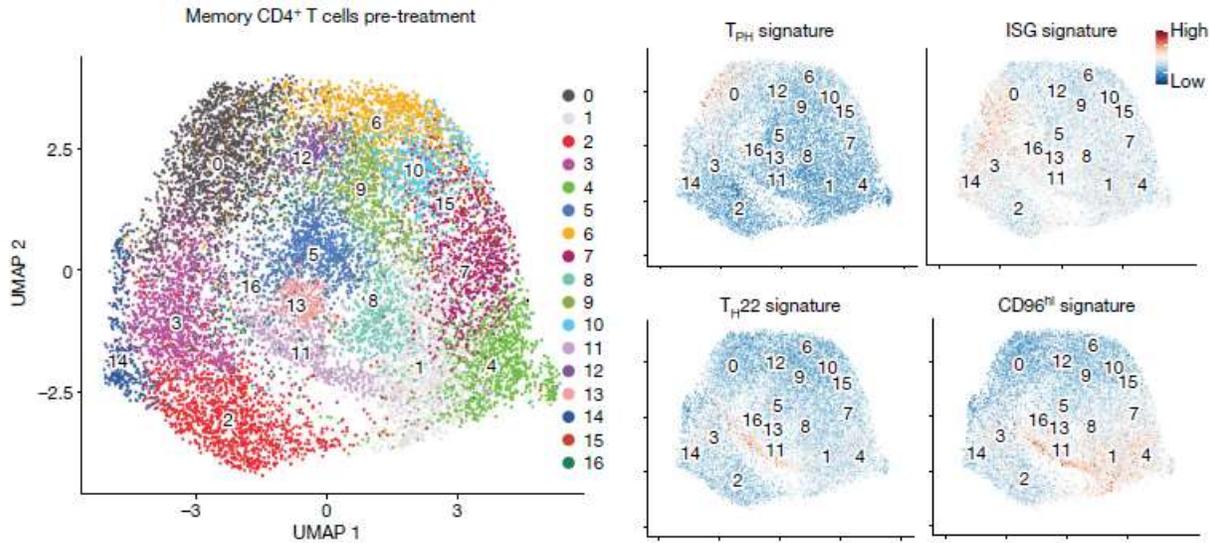
SLE患者：IFNはTph分化を促進しAHRを阻害する



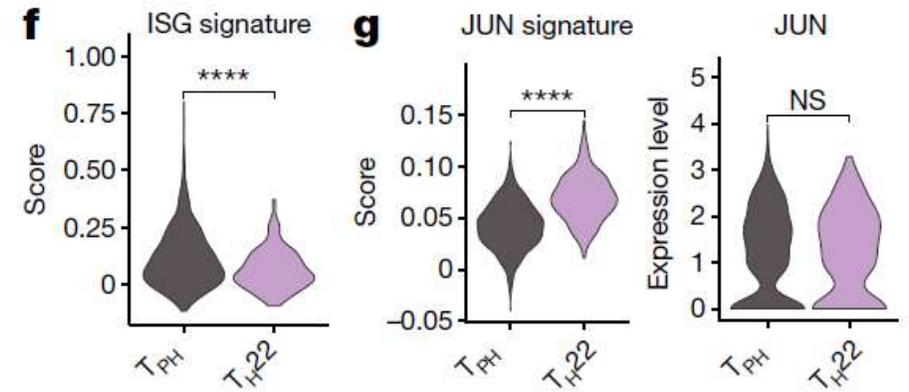
ISG^{hi} SLE CD4⁺Tは、
ISG^{low} SLEより
CXCL13発現が高い



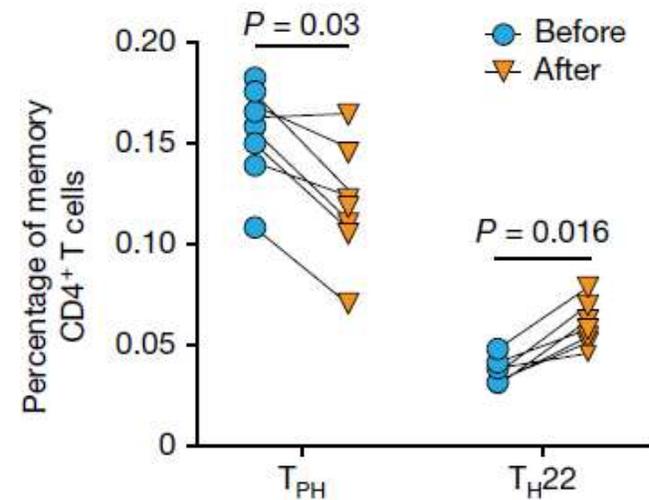
- 血清CXCL13: ISG^{hi} SLEはISG^{low} SLEより高値
- ISG^{hi} SLEでは、ANI投与で血清CXCL13が低下する (Placeboと比較して有意)



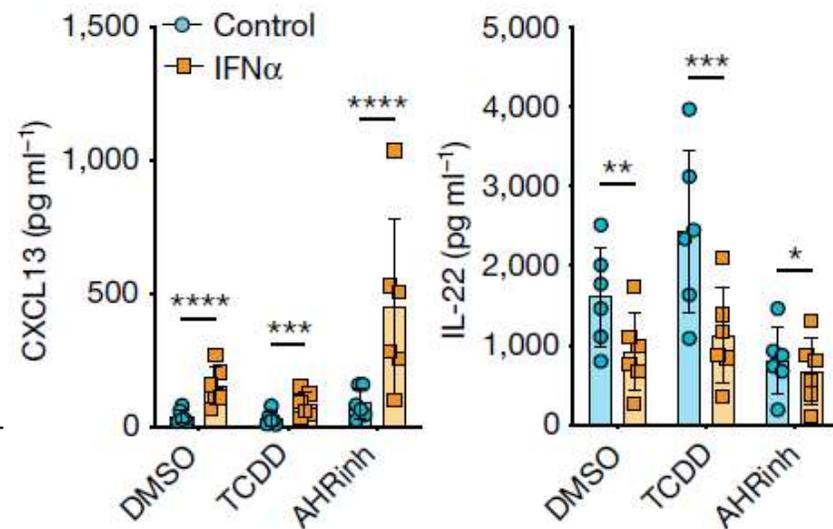
- ANI投与前 vs 1-2M後のmemory CD4⁺ UMAP clustering
- Tph(cluster 0)で、Tph/ISG sig. ↑ , Th22/CD96^{hi} sig. ↓



- ISG signatureは、Tph (cluster 0)の方が Th22 (cluster 11)より高い。
- JUN mRNA発現は両者で類似するが、JUN 標的遺伝子のsignatureはTphの方がTh22より低い。



- ANI投与により, Tph clusterは減り, Th22 は増加する.
- I型 IFNがSLEの Tphを増加させ, CXCL13産生を促す可能性が示される.



- HC T細胞のIn vitro 実験
- IFN α は, CXCL13産生を亢進させる.
- AHR agonist下では IL-22産生を著明に減少させた.

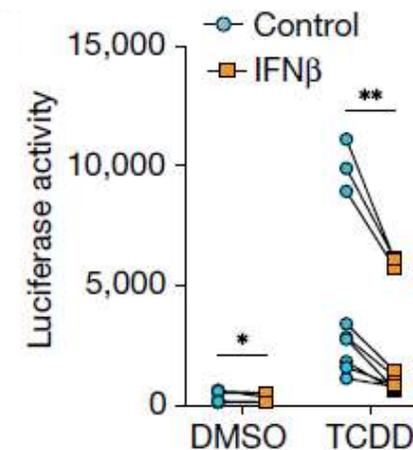
Chr. 4:77509753-77613834

CXCL13

72-h IFN β Rep 1 0-6.3
72-h IFN β Rep 2 0-6.3
72-h IFN β Rep 3 0-6.3
72-h Ctrl Rep 1 0-6.3
72-h Ctrl Rep 2 0-6.3
72-h Ctrl Rep 3 0-6.3

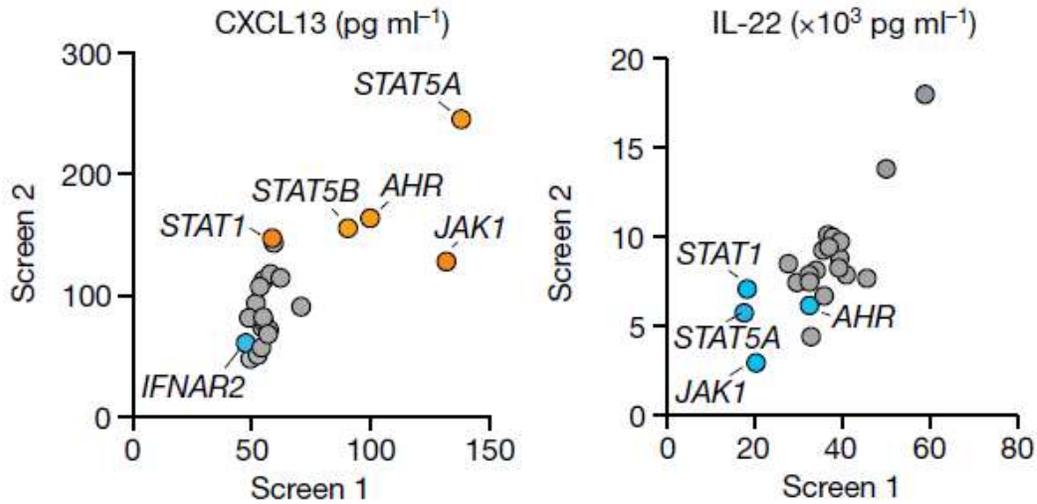


- 公開されているIFN β 処理CD4⁺TのATAC-seqデータを比較.
- IFN β 処理により, CXCL13遺伝子座へのアクセス性が向上していた.

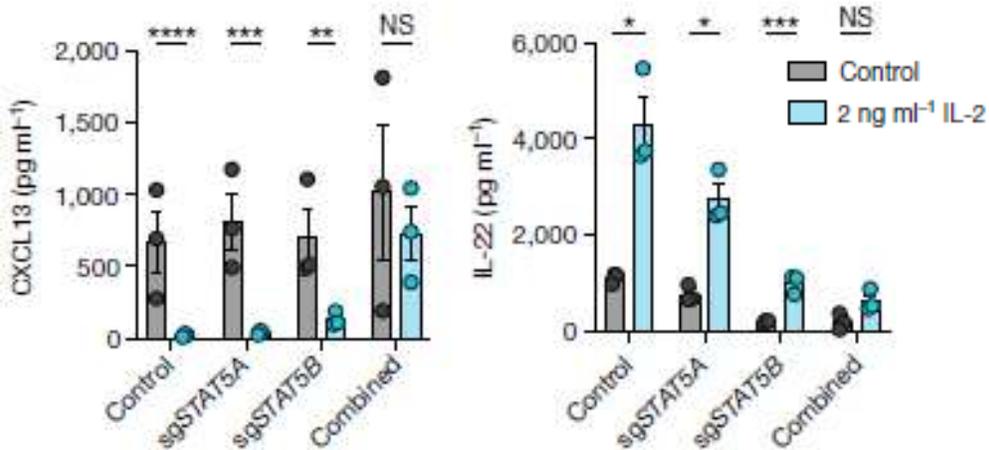


- AHRレポーター細胞をIFN β で前処理すると, TCDD誘導性の luciferase活性が阻害された

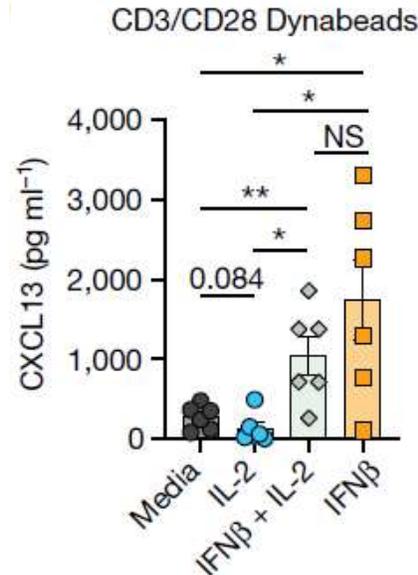
IFNはIL-2/JUNと相対してCXCL13⁺Tphを増やす



- IFN調節モジュール遺伝子をターゲットとした array CRISPR スクリーニング
- IFNAR2の欠失はIFN誘導CXCL13産生亢進を阻害した。
- STAT5A, STAT1, JAK1の欠失は, AHR欠失同様にCXCL13産生を増加させ, IL-22産生を減少させた。
- STAT5A, STAT1, JAK1は, IFNとIL-2シグナル伝達に関与する. IL-2はCXCL13産生抑制因子であることは既知。

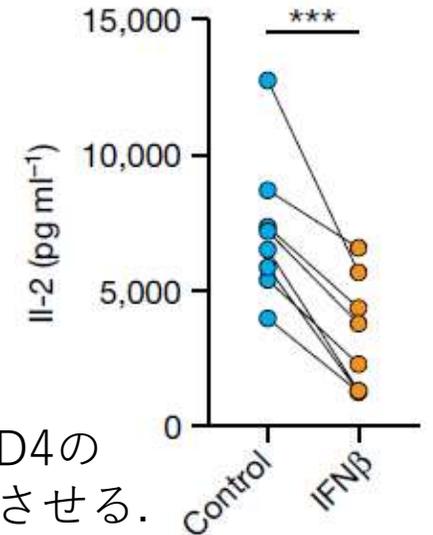


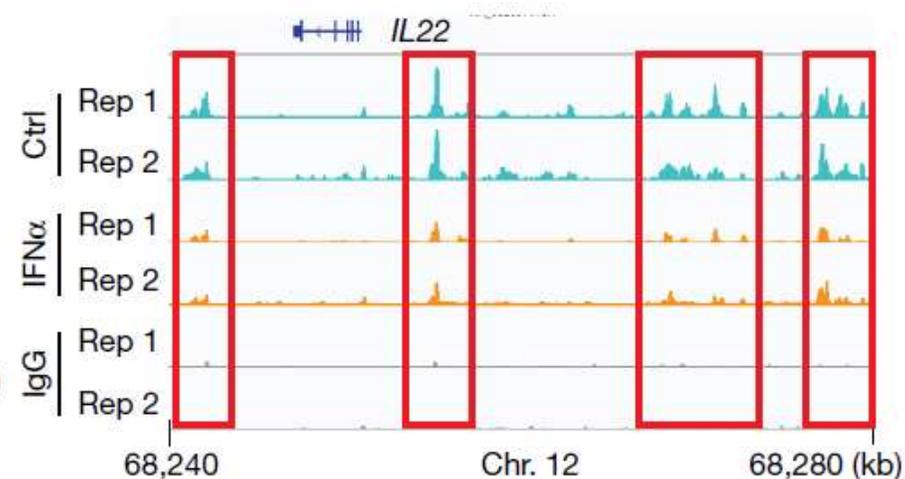
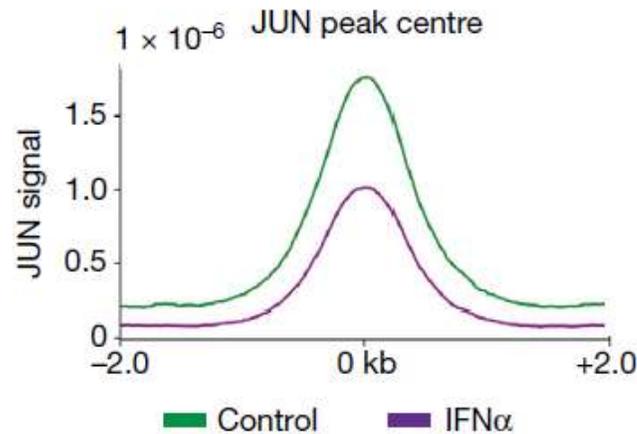
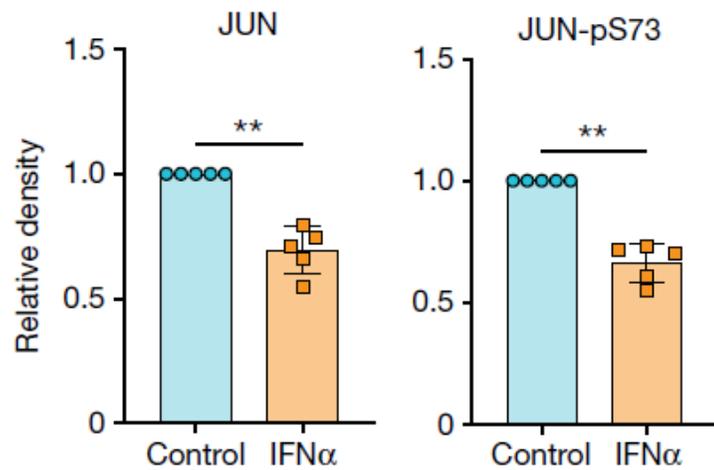
刺激memory CD4⁺TにIL-2を添加 →
CXCL13産生低下・IL-22産生亢進 →
これにはSTAT5が必要 (AB欠失で阻害)



IL-2処理CD4Tに
IFN β を添加すると
CXCL13産生が回復
する。

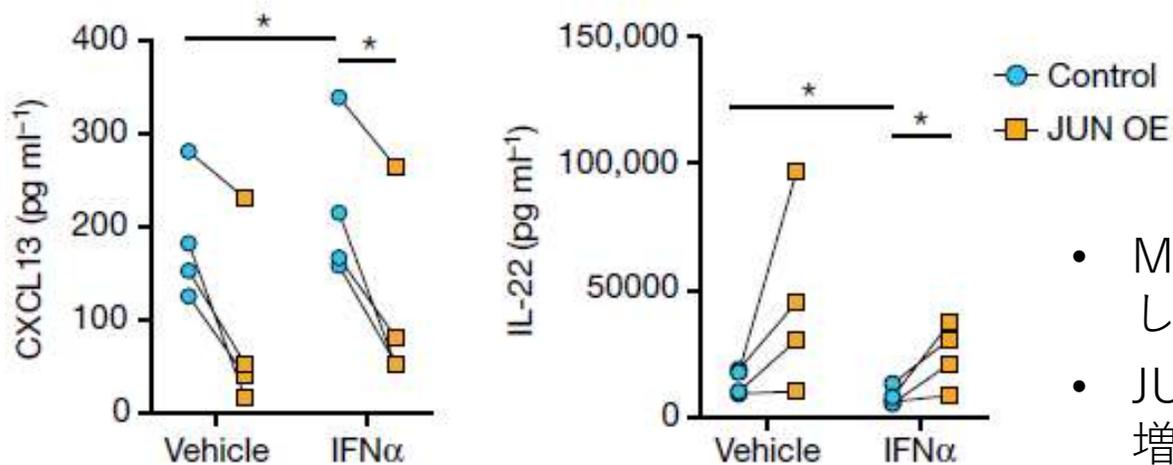
IFN β は, 刺激CD4の
IL-2産生も減少させる。





CD4⁺ T細胞をIFN α で処理すると、総JUNとリン酸化JUNが大幅に減少。

IFN α の有無で培養したCD4⁺ Tの分析：
IFN α がIL22を含むゲノム全体でJUN結合を大幅に減少させた。



- Memory CD4⁺T細胞にJUNを過剰発現させ, in vitro刺激した上清ELISAの比較.
- JUNの過剰発現によって, IFN α の作用 (CXCL13産生を増強し, IL-22産生を抑制する) が減弱した.

Discussion

- Tph/TfhとTh22のバランスは, AHRが強力に制御している.
- AHRはJUNと連携してCXCL13⁺ Tphの分化を阻害, IL-22⁺Th22を増加.
- SLEやその他の自己免疫性疾患ではAHRの活性が不十分とされる.
- IFNは複数の機序でAHRを阻害する. IFNはJUN発現を阻害し, JUNのゲノムへの結合も阻害する.
- ANIがTphとCXCL13を下げ, SLEでのこの経路の関与を強く示唆する.
- AHRを治療的に増強すると, CXCL13⁺Tph/Tfhの分化とB細胞の活性化を予防できる可能性がある.