

COVID-19 と IgG4 関連疾患における Isotype 特異的 Tfh 細胞

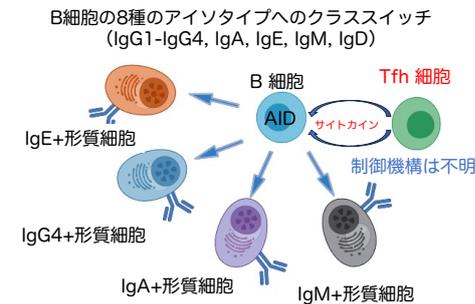
九州大学大学院歯学研究院 顎顔面病態学講座 顎顔面腫瘍制御学分野

金子 直樹

<研究目的>

濾胞性ヘルパーT (Tfh) 細胞はCD4+ヘルパーT細胞の一種であり、B細胞の分化およびクラススイッチにおいて重要な役割を果たす。B細胞のクラススイッチには8種のアイスotype (IgG1-IgG4, IgM, IgA, IgD およびIgE) が関与することが知られており、それぞれ性質が異なることが報告されている。われわれは以前の研究で、高IgG4血症・IgG4陽性形質細胞浸潤を特徴とするIgG4関連疾患 (IgG4-RD) において、IL-4を産生するTfh細胞が、AID (クラススイッチに必須の分子) を発現するIgG4+ B細胞と直接コンタクトしていることを明らかにした。さらにEisenbarthらの研究では、IL-4およびIL-13を共発現するTfh細胞が、マウスやヒトのIgEクラススイッチングを促進することが明らかにしている。これらの報告はアイソタイプ特異的なTfh細胞のサブセットが、B細胞に異なるアイソタイプへのクラススイッチを誘導することを示唆している。したがって本研究の目的は、B細胞のアイソタイプに偏向がある疾患 (IgG4-RD、木村氏病、新型コロナウイルス感染症) のリンパ節組織や末梢血を用いて、それぞれのアイソタイプに特異的なTfh細胞のサブセットを特定し詳細に解析することで、クラススイッチの制御機構を明らかにすることである。

B細胞の各アイソタイプへのクラススイッチ



B細胞を各アイソタイプへ導く特異的なTfh細胞が存在

アイソタイプクラススイッチのメカニズムの解明

研究計画

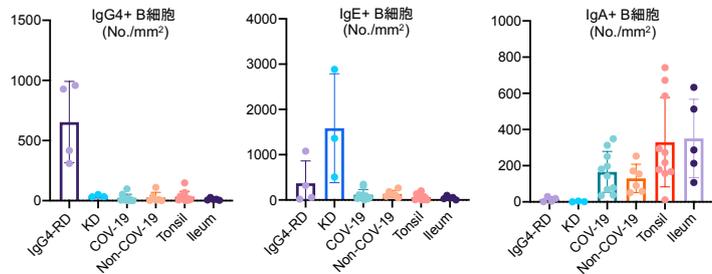
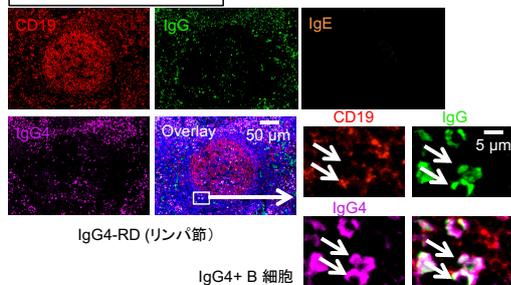
1. 多重蛍光染色法を用いたリンパ節におけるTfh細胞およびB細胞の検討
2. フローサイトメトリーを用いた末梢血液におけるTfh細胞およびB細胞の検討
3. 各組織を用いたSingle-cell RNA sequence
4. 特定されたTfh細胞サブセットとB細胞の共培養

<研究計画>

予備実験にてIgG4関連疾患 (IgG4-RD)、木村氏病 (KD) および新型コロナウイルス感染症 (COV-19) のリンパ節においてそれぞれIgG4、IgE、IgAのアイソタイプに偏向することを明らかにしている。同疾患のリンパ節組織および末梢血液を用いて、アイソタイプ特異的Tfh細胞について検討する。

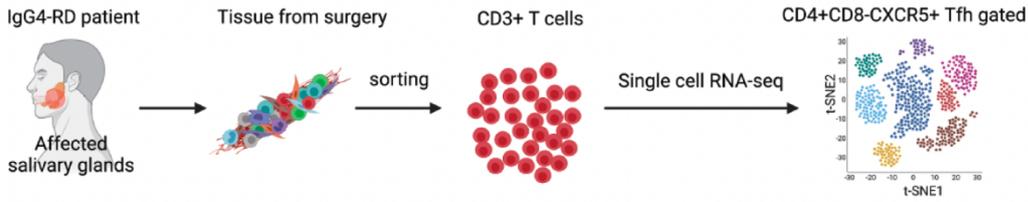
(IgGNon-COV-19: 健康者、Tonsil: 扁桃腺、Ileum: 回腸)

CD19 IgG IgE IgG4 DAPI



<研究結果（一部抜粋）>

1. IgG4-RDにおけるIL-10産生Tfh細胞(罹患臓器を用いたsingle cell RNA-seq)



IgG4-RD患者の罹患臓器（顎下腺）を用いてsingle cell RNA-seqを行ったところ、多数のTfh細胞の組織への浸潤を認め、さらにIgG4へのクラススイッチに必要とされているIL-10産生Tfh細胞のクラスターを認めた（図1）。

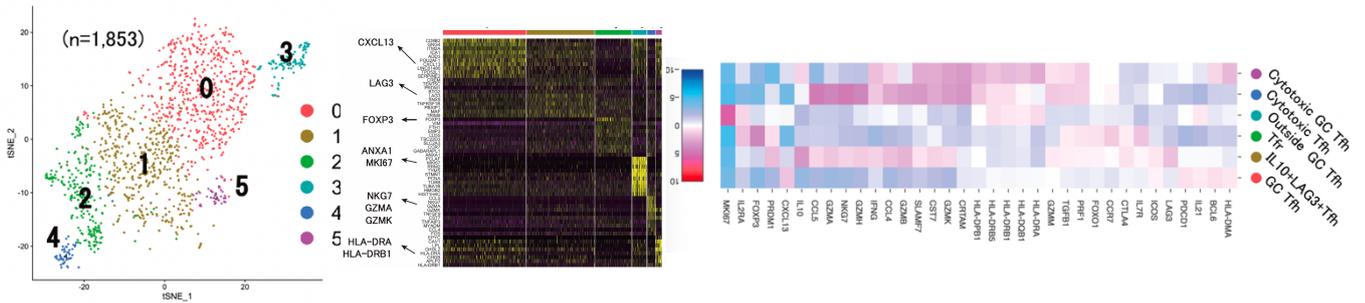


図1 Tfh細胞のクラスター分類とIL-10産生Tfh細胞のクラスター

また、IL-10産生Tfh細胞のクラスターはKDやcontrolと比較してIgG4-RDで著明に増加を認めた。加えて、それらのTfh細胞は高頻度でB細胞と細胞間接触を形成することが分かった（図2）。末梢血液中のCirculating Tfh細胞についても、同様にIgG4-RDでは増加していることが分かった。

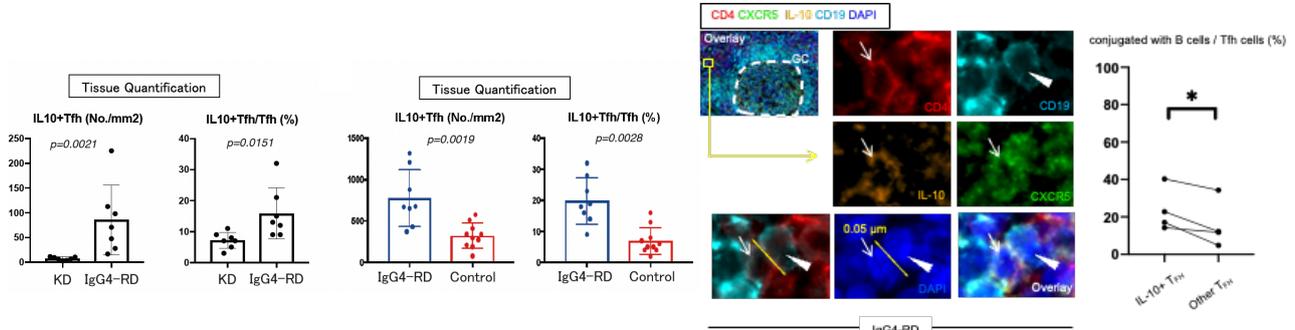


図2 IL-10産生Tfh細胞の組織への浸潤と、B細胞との細胞間接触

2. KDとCOVID-19におけるIL-13産生Tfh細胞とTGF-β産生Tfh細胞（多重蛍光免疫染色）

IgEとIgAのクラススイッチには各々IL-13/IL-4、TGF-βが重要とされている。IgEのクラススイッチ偏向を生じるKDと、IgAのクラススイッチ偏向を生じるCOVID-19において、IL-13、IL-4とTGF-βの産生細胞を調べた。その結果、KDではBATF陽性のIL-13/IL-4産生Tfh細胞が増加しており、COVID-19ではTGF-β産生Tfh細胞の増加を認めた（図3、図4）。さらにKDにおいては、IL-4産生細胞、IL-13産生細胞、IL-4/IL-13共産生細胞のサブセットが存在することが明らかとなった。

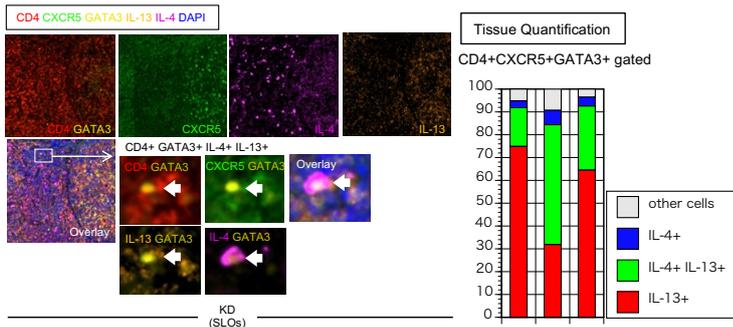


図3 KDにおけるIL-13産生Tfh細胞

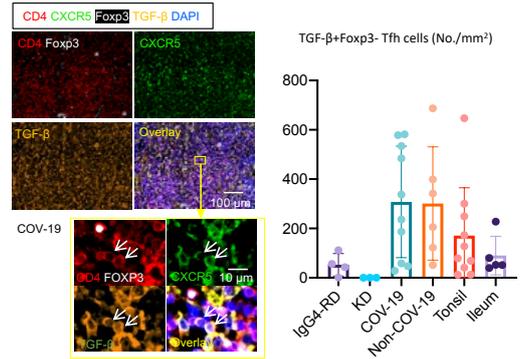


図4 COVID-19におけるTGF-β産生Tfh細胞

3. Isotype特異的レセプターを発現するB細胞 (罹患臓器を用いたsingle cell RNA-sequence)

IgG4-RDにおけるIL-10産生Tfh細胞の増加や、IgG4のクラススイッチにIL-10やIL-4が重要であることを考慮すると、IgG4-RDで増加するIgG4陽性B細胞にはIL-10やIL-4に対するレセプターが存在すると考えられる。そのためIgG4-RDにおけるB細胞についてIgG4-RD患者の罹患臓器（顎下腺）を用いてsingle cell RNA-seqを行ったところ、多数のB細胞の組織への浸潤を認めた（図5）。

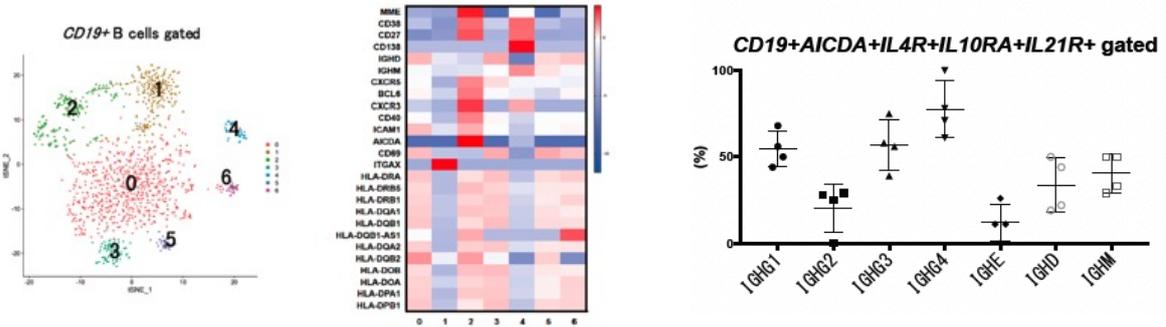


図5 IgG4-RDにおけるIL-4RとIL-10Rを発現するIgG4陽性B細胞

<考察>

本研究の結果、B細胞のアイソタイプに偏向がある疾患（IgG4-RD、木村氏病、新型コロナウイルス感染症）のリンパ節組織や末梢血において、それぞれのアイソタイプに特異的なTfh細胞のサブセットが増加し、B細胞のクラススイッチに関与する可能性が示唆された（図6）。またB細胞でも各々のクラススイッチに対応するレセプターを発現し、Tfh細胞と機能連関する可能性が高い。今後、クラススイッチ偏向を生じるような疾患においては、クラススイッチ特異的なTfh細胞を標的とした治療法も考え得る。

一方で、何がIsotype特異的なTfh細胞を増加し、クラススイッチ偏向を生じさせるのかは未だに不明である。各々の疾患に特異的な疾患環境であると推測されるが、抗原なのか、サイトカインなのか、今後解明を進めていく必要がある。また当初の本研究の研究計画で述べていた、細胞培養による機能実験は条件設定が困難なこともあり、未だ達成できていない。機能面での解明のためにも早急に進めていく予定である。

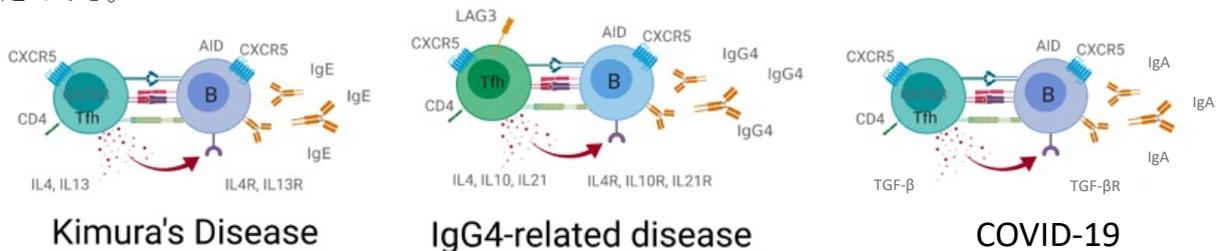


図6 Isotype (疾患) 特異的なTfh細胞を介したIsotypeクラススイッチ