

COVID-19 における特異な T 細胞および B 細胞サブセットの増加とその機能の解明

金子直樹

九州大学大学院歯学研究院 顎顔面腫瘍制御学分野

【研究の背景】

われわれのグループは、以前より自己免疫疾患である IgG4 関連疾患、シェーグレン症候群、木村氏病や強皮症において増加する特異な T 細胞および B 細胞サブセットについて研究を進めてきた。なかでも CD4+CTLs と DN B 細胞について、健常者では認められないが上記の疾患でクローナルに増加し病態に深く関与するサブセットとして着目、多くの報告をしてきた。そのような経緯から COVID-19 において生じる特異な免疫反応について、特に T 細胞と B 細胞に着目し世界的にもリーダーシップを取っていち早くその病態解明に取り組んできた。申請者は、COVID-19 で産生される抗体は持続性に劣るとの報告から、抗体産生細胞への分化の主たる場となる二次リンパ器官に着目し解析、DN B 細胞の増加と胚中心(産生される抗体の質に関与する構造)および胚中心 B 細胞の減少を明らかにした。この報告は、COVID-19 において生じる免疫記憶の異常の一端を明らかにしたとして Cell に掲載された。さらにその後の研究で、興味深いことに自己免疫疾患で増殖していた CD4+CTLs および DN B 細胞が COVID-19 患者の肺組織および末梢血においても増加し、その病態形成に関与することを明らかにした。それから現在まで、COVID-19 と自己免疫疾患の病態解明に向けて九州大学病院にて米国の Ragon Institute of MGH, MIT and Harvard の Shiv Pillai と共同研究を続けている。

【目 的】

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)について、その治療法やワクチン開発は劇的な進捗を見せているものの、病態については未だ不明な点が多くその解明が望まれている。われわれは先行研究で、自己免疫疾患(IgG4 関連疾患、シェーグレン症候群および強皮症)で増加し、健常者では認められない特殊なサブセットである CD4+ cytotoxic T lymphocytes (CD4+CTLs) と IgD-CD27- B (double negative B; DN B) 細胞が COVID-19 においても増加し病態に関与することを明らかにした。本研究の目的は、これら COVID-19 の病態形成における CD4+CTLs と DN B 細胞の役割およびその関連を明らかにし、治療応用への可能性を模索することである。

【方 法】

CD4+CTLs と DN B 細胞について、COVID-19 やその他の自己免疫疾患における病態との関連を検討する。申請者は現在、以前の留学先である米国の Ragon Institute of MGH, MIT and Harvard と共同研究を行っており、COVID-19 のサンプルにアクセス可能である。また現所属では、IgG4 関連疾患を含む多数の自己免疫疾患のサンプルを使用可能である。これらのサンプルを用いて、(1) 多重蛍光染色とその解析による空間的情報の検討、(2) フローサイトメトリーによる末梢血の解析を行なった。

【結 果】

(1) 多重蛍光染色とその解析による空間的情報の検討

COVID-19 の肺組織において、CD4+CTLs と DN B 細胞の増加を認めた。CD4CTLs は CD4 ヘルパーT 細胞の中での

意に増加していた唯一のサブセットであった。

(2) フローサイトメトリーによる末梢血の解析

CD4+CTLs と DN B 細胞は、COVID-19 患者の、末梢血において共に増加していた。

(3) Single-cell RNA-seq による全 T 細胞および B 細胞の解析

自己免疫疾患 (IgG4 関連疾患) の罹患臓器における T・B 細胞について Single-cell RNA-seq と TCR・BCR レパトア解析を行なったところ、CD4+CTLs と DN B 細胞の浸潤を認め、クローナリティーを持って増加拡大していた。それらの細胞の機能の解析のため、各種サイトカインの発現をさらに検索したところ CD4+CTLs は細胞障害性サイトカインや線維化因子を、DN B 細胞は抗体産生に関与する分子を多数発現していた。

【考 察】

COVID-19 の組織・末梢血において CD4+CTLs と DN B 細胞増加していることが明らかとなった。シングルセル解析の結果を考慮すると、それらの細胞が COVID-19 の症状である臓器障害や組織の線維化、そして自己抗体を含む抗体産生に関与することが示唆された。これらのサブセットは COVID-19 のみならず多くの自己免疫疾患においても病態形成に重要な役割を果たすことが知られており、これらの疾患に共通する症状である組織障害・組織線維化・自己抗体産生にダイレクトに関与する細胞サブセットであり、治療標的として大きな可能性を秘めていると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、COVID-19 においては、特異な T・B 細胞サブセットである CD4+CTLs と DN B 細胞が増加することが明らかとなった。前者は細胞障害性サイトカインや線維化因子を産生することにより、組織障害や組織線維化を惹起することが、後者は自己抗体を含む抗体産生 (COVID-19 では IFN- γ に対する自己抗体産生が顕著) に関与することが明らかとなった。これらの細胞サブセットは COVID-19 のみならず多くの自己免疫疾患においても病態形成に重要な役割を果たすことが報告されている。そのため、これらの細胞サブセットをターゲットとした分子標的治療について研究を進め、多くの疾患に応用可能な画期的治療法の開発に繋がりたいと考えている。

【参考・引用文献】

Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. Cell;183(1):143-157, October 2020.

Activated CD4+ and CD8+ cytotoxic T lymphocyte subsets and enhanced tissue apoptosis in the pathogenesis of IgG4-related disease. J Allergy Clin Immunol;147(1):368-382, May 2020.