DOI:10.16016/j.1000-5404.202010104



滤泡调节性 T 细胞分化的作用机制

刘新东,吴 鑫 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院病理科,全军临床病理学研究所

[摘要] 滤泡调节性 T 细胞(follicular regulatory T cells, Tfr)伴随着生发中心(germinal centers, GC)反应生成,而促使 Tfr 细胞形成的分子线索仍然未知。本课题组研究发现硬化蛋白结构域蛋白 1(sclerostin domain-containing protein 1, SOSTDC1)是 Tfr 细胞生成所必需的,由滤泡辅助性 T 细胞(follicular helper T cells, Tfh)亚群以及 T-B 边界区域丰富的成纤维网状基质细胞(fibroblastic reticular cells, FRCs)分泌。在动物实验(小鼠)中,运用命运示踪法和转录组学明确了表达 SOSTDC1 的 Tfh 细胞为一个独特的 T 细胞群,它由 SOSTDC1 阴性的 Tfh 细胞发育形成,失去了帮助 B 细胞产生抗体的功能。值得注意的是,Tfh 细胞中 SOSTDC1 缺失将导致 Tfr 细胞数量显著减少,进而促进 GC 反应升高。在机制上,SOSTDC1 通过阻断 WNT-β-catenin 信号轴,促进 Tfr 细胞分化。

[关键词] 硬化蛋白结构域蛋白 1;滤泡辅助性 T 细胞;滤泡调节性 T 细胞;生发中心反应

[中图法分类号] R392.12 [文献标志码] A

Molecular cues govern follicular regulatory T cell differentiation

LIU Xindong, WU Xin Institute of Pathology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] Follicular regulatory T (Tfr) cells are generated with the responses of germinal center (GC). However, the molecular mechanism on the cell generation is still unknown. Our study found that sclerostin domain-containing protein 1 [SOSTDC1, secreted by a subpopulation of T follicular helper (Tfh) cells and T-B cell border-enriched fibroblastic reticular cells (FRCs)], is essential in the process of Tfr cell generation. With the aid of reporter mice, the results of fate tracking and transcriptome assessment indicated that the Tfh cells expressing SOSTDC1 are identified as a unique T cell population, are developed from SOSTDC1$^-$ Tfh cells, and have lost their ability to help B cells in the production of antibodies. It is worth noting that lack of SOSTDC1 results in substantially decreased Tfr cell numbers, and enhanced GC responses. In the aspect of mechanism, SOSTDC1 promotes the differentiation of Tfr cells by blocking Wnt-β-catenin signaling axis.

[**Key words**] SOSTDC1;follicular helper T cell;follicular regulatory T cell;germinal center response

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31770973 and 81703531). Corresponding author: LIU Xindong, E-mail: xindongliu@hotmail.com

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31770973,81703531)

[通信作者] 刘新东,博士,教授,博士研究生导师。兼任 Immune Network(SCI 收录)编委和中华医学会病理学分会的国际交流委员等职务,是 Nature,Nat Immunol, Immunity,JEM 等杂志的审稿人。主持国家重点研究开发计划子课题和多项国家自然科学基金。以通信作者在 Science(2020)、Nature(2014,2019)、Cell Res(2020)、J Immunol 等 SCI 重要国际刊物上发表论著多篇,F1000 收录论文多篇。主要从事 T 细胞分化及效应功能调控机制方面的研究。E-mail:xindongliu@hotmail.com

近年来,研究发现了一群新的调节性 T 细胞,即滤泡调节性 T 细胞(follicular regulatory T cells, Tfr),其伴随着生发中心(germinal center, GC)反应形成。构成 GC 反应的 Tfr 细胞,滤泡辅助性 T 细胞(follicular T helper cells, Tfh)和 B 细胞的相互作用在抗体、免疫记忆产生中发挥重要功能。其中,Tfh 细胞迁移到 GC,给同源的 B 细胞提供必需的生存、增殖和选择信号,促使 B 细胞经历一系列的反应包括亲和力成熟、

类别转换、高频突变,最终产生大量的高亲和力抗体和记忆性 B 细胞。Tfr 细胞与 Tfh 细胞功能相反,能够负向调控体液免疫的中心轴"Tfh-B 细胞-抗体"。Tfr 细胞在维持正常体液免疫应答的同时,防止抗体介导的自身免疫性疾病发生。目前研究认为,Tfr 细胞来源于胸腺的天然 Treg 细胞(natural Treg, nTreg)。然而,nTreg 细胞如何分化形成 Tfr 细胞是领域内空白。本述评拟结合文献和本实验室工作,介绍 Tfr 细胞在 GC 反应中的作用及其机制。

1 Tfr 细胞与生发中心反应

Tfh 细胞是一类新鉴定的辅助性 $CD4^+$T 细胞。在引流淋巴组织中,受抗原激活的 $CD4^+$T 细胞表达趋化因子受体 CXCR5,识别并结合源自 B 细胞的趋化因子配体 CXCL13,脱离 T 细胞区而迁移至 B 细胞滤泡区,诱导 GC 的产生。这群 $CD4^+$T 细胞在上述过程中经由 *Bcl6* 转录调控,最终分化发育成 Tfh 细胞[1-3]。Tfh 细胞表达特征性表面分子 CXCR5、PD-1 和 ICOS 等[4]。在 GC 中,Tfh 细胞通过 ICOS 和 CD40L 等细胞表面分子以及分泌的细胞因子 IL-21 等,直接作用于抗原特异性 B 细胞[5]。在 Tfh 细胞的帮助下,B 细胞经历活化、增殖,类别转换,高频突变,最终产生高亲和力的抗体和记忆性 B 细胞。因此,Tfh 细胞在诱导 B 细胞分泌高亲和力抗体、为机体清除外来病原体、维持体液免疫和控制自身免疫性疾病等过程中扮演十分重要的角色[6]。

新近研究进一步表明,Tfr 细胞是一类新发现的调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)亚群,其特点是细胞表型与 Tfh 细胞和 Treg 细胞均有重叠,不仅表达 Tfh 细胞的标志物 CXCR5、Bcl6、PD-1 和 ICOS,还表达 Treg 细胞的标志物 CTLA4、GITR 和 Foxp3。Tfr 细胞由胸腺来源的 nTreg 细胞分化形成,Tfh 细胞则由 naive $CD4^+$ T 细胞分化形成。在功能上,Tfr 细胞能够抑制 Tfh 和 B 细胞,负反馈调控 GC 反应,抑制抗体产生[7-9]。细胞因子 IL-21、IL-2 和 IL-6 可以负向调控 Tfr 细胞分化[10-12]。细胞因子 IL-21 与其受体 IL-21R 结合,上调转录因子 *Bcl6*,减少 CD25 表达,从而抑制 Tfr 细胞分化[10-11]。在流感病毒感染期,高浓度的 IL-2 能够抑制 Tfr 细胞反应,当免疫反应消退后,$CD25^+$ Treg 细胞通过降低 CD25 表达,上调转录因子 Blimp-1 表达,上调 *Bcl6*、CXCR5 和 PD-1 分化为 Tfr 细胞[12]。然而,在生发中心,nTreg 细胞如何分化为 Tfr 细胞的机制尚不清楚;Tfh 细胞是否具有负向调控功能,更是领域内研究空白。

2 Tfh 细胞新亚群负反馈调节 Tfr 细胞分化

2020 年 8 月 21 日,我们课题组在 Science 杂志发表题为"SOSTDC1-producing follicular helper T cells promote follicular regulatory T cell differentiation"的研究论文,明确报道 Tfh 细胞新亚群——$SOSTDC1^+$Tfh 细胞,阐明其通过促进 Tfr 细胞分化,负反馈调控抗体产生[13]。该研究展示了 Tfh 细胞新亚群如何调控 Tfr 分化,从而维持体液免疫稳态,阐释了 Tfr 细胞分化的新机制。在本研究中,首先为了明确 SOSTDC1 (sclerostin domain-containing protein 1) 在 Tfh 细胞中表达[14],我们在国际上建立了 $Sostdc1^{EGFP}$/$Bcl6^{RFP}$ 双报告转基因小鼠,结果显示:30% Tfh 细胞特异性高表达 SOSTDC1,并形成特定的细胞亚型 $SOSTDC1^+$Tfh。免疫荧光染色显示 SOSTDC1 主要由分布在 T-B 细胞边界区域的 Tfh 细胞和成纤维网状基质细胞(FRCs)表达(图 1)。随后,我们进一步采用单细胞转录组测序分析揭示了 $SOSTDC1^+$ Tfh 新亚型是由 $SOSTDC1^-$Tfh 细胞分化生成。在体外实验中发现 $SOSTDC1^+$ Tfh 细胞与经典的 Tfh 细胞功能不同,它不能帮助 B 细胞产生抗体。

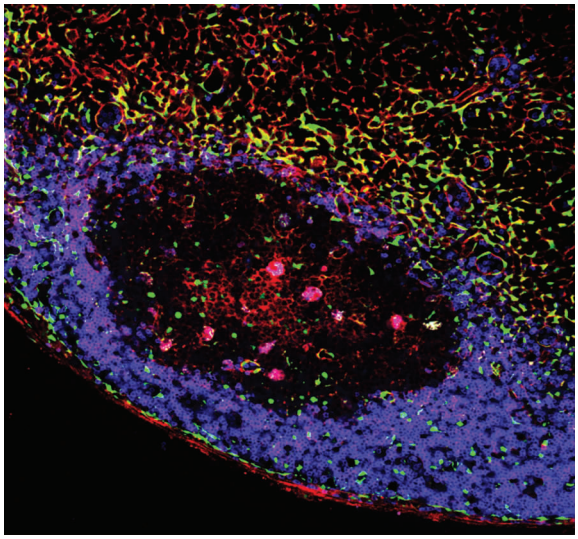


图 1 SOSTDC1 在引流淋巴结的分布

$SOSTDC1^+$Tfh 细胞的功能是什么?在小鼠的流感病毒感染模型以及 KLH 特异性抗原免疫模型中,我们发现 SOSTDC1 缺失增强生发中心反应:伴随着生发中心 B 细胞数目的增多,Tfr 细胞数目明显减少。进一步采用骨髓移植构建嵌合体小鼠,我们发现 Tfh 细胞来源的 SOSTDC1 能够促进 Tfr 细胞分化。为了进一步探究 SOSTDC1 促进 Tfr 细胞分化的分子机制,我们通过转录组分析发现,$SOSTDC1^-$Tfh 细胞表达大量的 WNT

配体基因,而 SOSTDC1$^+$ Tfh 细胞表达拮抗 WNT 信号的基因。已有研究表明 WNT 信号能够抑制 Treg 细胞功能[15-17]。因此,我们推测:缺失 SOSTDC1 上调 WNT/β-catenin 信号通路,从而抑制 Tfr 细胞分化。通过对 SOSTDC1 缺失情况下的 Tfr 细胞分析,发现受损 Tfr 细胞呈现炎性细胞特征:大量表达 IL-4、IL-5、IL-6、IL-13 以及 IL-21 等炎性细胞因子,同时 Tfr 细胞表现为 WNT/β-catenin 信号通路过度激活,表明 Tfh 可通过 SOSTDC1 促进 Tfr 的分化和功能。我们从 nTreg 如何分化为 Tfr 细胞这一领域内开放性问题入手,原创性地证实 Tfh 细胞的新亚群能够促进 Tfr 细胞分化,进而负反馈调节生发中心反应,维持体液免疫稳态。

3 问题和展望

近期,Tfr 细胞分化的作用机制取得了重大进展。但是,许多问题和困惑亟待解答,例如:①Tfr 细胞如何调节抗体亲和力成熟和 Tfh 反应? ②Tfr 细胞是否调节记忆 B 细胞的产生、分化或存活? ③何种信号驱动 Tfr 细胞对 GC 做出响应以及 Tfr 细胞识别何种抗原? ④虽然 Tfr 细胞可以抑制 Tfh 和 B 细胞是清楚的,但它们是如何发挥这些抑制作用仍不清楚。上述问题的解答将有助于促进我们对 Tfr 细胞的认识、增进对 Tfr 细胞调控肿瘤以及自身免疫性疾病的理解。

参考文献:

[1] JOHNSTON R J, POHOLEK A C, DITORO D, *et al*. Bcl6 and blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper celldifferentiation[J]. Science, 2009, 325(5943): 1006-1010. DOI: 10.1126/science.1175870.

[2] NURIEVA R I, CHUNG Y, MARTINEZ G J, *et al*. Bcl6 mediates the development of T follicular helpercells[J]. Science, 2009, 325(5943): 1001-1005. DOI: 10.1126/ science.1176676.

[3] YU D, RAO S, TSAI L M, *et al*. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment [J]. Immunity, 2009, 31(3): 457-468. DOI: 10.1016/j.immuni. 2009. 07.002.

[4] LIU X, NURIEVA R I, DONG C. Transcriptional regulation of follicular T-helper (Tfh) cells[J]. Immunol Rev, 2013, 252(1): 139-145. DOI: 10.1111/ imr.12040.

[5] CROTTY S. Follicular helper CD4 T cells (TFH)[J]. Annu Rev Immunol, 2011, 29: 621-663. DOI: 10.1146/annurev-immunol-031210-101400.

[6] VICTORA G D, NUSSENZWEIG M C. Germinal centers [J]. Annu Rev Immunol, 2012, 30(1): 429-457. DOI: 10.1146/annurev-immunol-020711-075032.

[7] CHUNG Y, TANAKA S, CHU F L, *et al*. Follicular regulatory T cells expressing Foxp3 and Bcl-6 suppress germinal center reactions[J]. Nat Med, 2011, 17(8): 983-988. DOI: 10.1038/nm. 2426.

[8] LINTERMAN M A, PIERSON W, LEE S K, *et al*. Foxp3+ follicular regulatory T cells control the germinal center response[J]. Nat Med, 2011, 17(8): 975-982. DOI: 10.1038/nm.2425.

[9] WOLLENBERG I, AGUA-DOCE A, HERNÁNDEZ A, *et al*. Regulation of the germinal center reaction by Foxp3+ follicular regulatory T cells[J]. J Immunol, 2011, 187(9): 4553-4560. DOI: 10.4049/jimmunol.1101328.

[10] WING J B, KITAGAWA Y, LOCCI M, *et al*. A distinct subpopulation of CD25$^-$ T-follicular regulatory cells localizes in the germinalcenters[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(31): E6400-E6409. DOI: 10.1073/ pnas.1705551114.

[11] JANDL C, LIU S M, CAÑETE P F, *et al*. IL-21 restricts T follicular regulatory T cell proliferation through Bcl-6 mediated inhibition of responsiveness to IL-2[J]. Nat Commun, 2017, 8: 14647. DOI: 10.1038/ncomms14647.

[12] BOTTA D, FULLER M J, MARQUEZ-LAGO T T, *et al*. Dynamic regulation of T follicular regulatory cell responses by interleukin 2 during influenza infection[J]. Nat Immunol, 2017, 18(11): 1249-1260. DOI: 10.1038/ni.3837.

[13] WU X, WANG Y, HUANG R, *et al*. SOSTDC1-producing follicular helper T cells promote regulatory follicular T cell differentiation[J]. Science, 2020, 369(6506): 984-988. DOI: 10.1126/ science.aba6652.

[14] LIU X D, YAN X W, ZHONG B, *et al*. Bcl6 expression specifies the T follicular helper cell program in vivo[J]. J Exp Med, 2012, 209(10): 1841-1852. DOI: 10.1084/jem.20120219.

[15] VAN LOOSDREGT J, FLESKENS V, TIEMESSEN M M, *et al*. Canonical Wnt signaling negatively modulates regulatory T cell function[J]. Immunity, 2013, 39(2): 298-310. DOI: 10.1016/j. immuni.2013.07.019.

[16] KEERTHIVASAN S, AGHAJANI K, DOSE M, *et al*. β-catenin promotes colitis and colon cancer through imprinting ofproinflammatory properties in T cells[J]. Sci Transl Med, 2014, 6(225): 225ra28. DOI: 10.1126/ scitranslmed. 3007607.

[17] SUMIDA T, LINCOLN M R, UKEJE C M, *et al*. Activated β-catenin in Foxp3+regulatory T cells links inflammatory environments to autoimmunity[J]. Nat Immunol, 2018, 19(12): 1391-1402. DOI: 10.1038/ s41590-018-0236-6.

(收稿:2020-10-16;修回:2020-10-23)

(编辑 王 红)