

通过单细胞多组学分析解析免疫耐受的机制

达特茅斯学院盖泽尔医学院的研究人员近日提供了证据，表明T细胞活化的V免疫球蛋白抑制物 (VISTA) 是最早的T细胞耐受的检查点调控因子。VISTA能够促进T细胞静息，并平衡初始CD4⁺ T细胞区室中的细胞类型和状态。Chromium单细胞免疫分析和Chromium单细胞ATAC解决方案通过分析转录组、T细胞库和开放染色质的变化，揭示了VISTA在免疫耐受中的作用。MA ElTanbouly et al., *Science*. (2020).

研究快照

研究领域: 自身免疫

物种: 小鼠

样本类型: 流式分选的CD4⁺ T细胞

研究问题:

初始T细胞的静息状态如何维持?

VISTA在免疫耐受中起什么作用?

VISTA如何影响免疫系统的检查点负向调控?

10x Genomics的产品

Chromium单细胞免疫分析解决方案

- Chromium Single Cell 5' Library and Gel Bead Kit
- Chromium Single Cell V(D)J Enrichment Kit, Mouse T Cell
- Chromium Single Cell A Chip Kit
- Chromium i7 Multiplex Kit
- Cell Ranger分析流程

Chromium单细胞ATAC解决方案

- Chromium Single Cell ATAC Library and Gel Bead Kit
- Chromium Chip E Single Cell ATAC Kit
- Chromium i7 Multiplex Kit N, Set A
- Cell Ranger ATAC分析流程

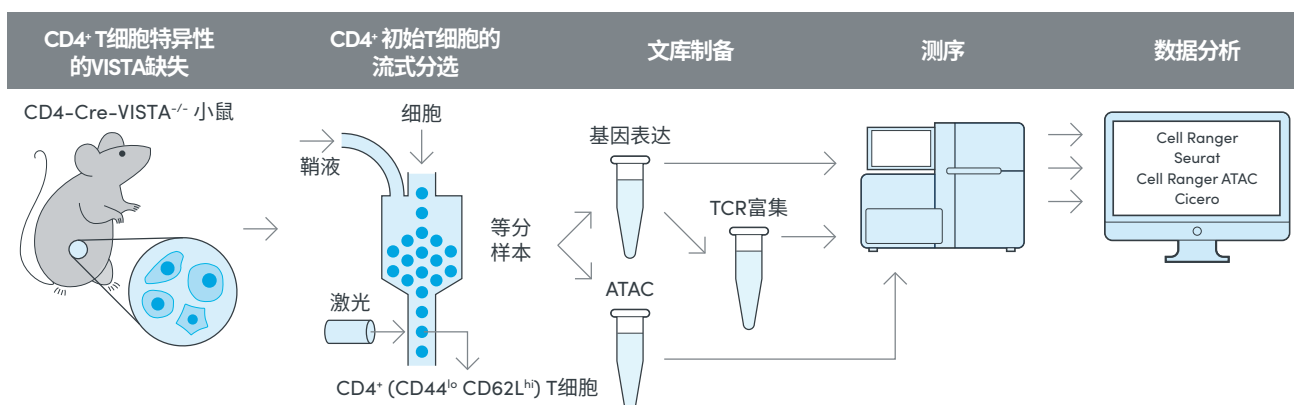
实验流程

小鼠CD4⁺ T细胞中VISTA的缺失或参与

- 采用Cre-lox系统在CD4-Cre小鼠中实现VISTA的条件性缺失
- 通过VISTA抗体的拮抗剂和激动剂对小鼠进行处理

VISTA缺陷型免疫细胞的单细胞多组学鉴定

- 根据CD4、CD44和CD62L的表达对初始T细胞进行流式分选
- 开展单细胞RNA-seq, 配对的全长T细胞受体测序, 以及初始T细胞的单细胞ATAC-seq



为什么要进行单细胞分析?

通过转录组学和表观基因组学对初始T细胞进行表型分析,发现特定的免疫细胞群体内存在令人惊讶的细胞异质性。 $CD4^+$ ($CD44^{lo} CD62L^{hi}$) T细胞内存在多个T细胞群体,以及独特的染色质状态,具体取决于VISTA的存在与否。VISTA的缺失让初始细胞对TCR刺激的反应更加强烈,从而降低了耐受性。

计算分析

为了确定VISTA缺失小鼠中不断变化的细胞群体,研究人员采用Seurat对单细胞基因表达数据进行无监督的聚类。他们仅使用高表达水平和基因型变异的基因来进行主成分分析(图1)。如果基因的表达水平太低,那么它们在单细胞中的信号更可能是由于偶然性,而不是生物学差异。至于各个样本之间表达水平相似的基因,它们也几乎无法提供样本间差异的信息。

结果

VISTA的缺失破坏了静息状态

从 $CD4^+$ T细胞中删除VISTA会导致初始T细胞的平衡发生改变,而记忆样初始T细胞的扩增是以静息T细胞为代价的。单细胞ATAC数据表明,在VISTA缺失的小鼠中,记忆样T细胞的多个TCR效应基因的可接近性增加,表明它们可能被启动,以增强T细胞活化。VISTA缺陷型小鼠与野生型小鼠的TCR序列比较,表明自身反应性无差异。

VISTA激动或拮抗对耐受的相反影响

在没有炎症的情况下,将VISTA与激动性抗体相结合可导致耐受性T细胞死亡的增加,从而促进了T细胞耐受。同样地,VISTA拮抗在耐受条件下阻断了T细胞死亡,但在炎症条件下没有影响。

VISTA在免疫检查点调控中发挥独特的作用,因为它只在初始T细胞中表达,并在更多经典的免疫治疗靶点(如CTLA-4和PD-1)的上游发挥作用,这些靶点目前已用于癌症治疗(图2)。了解VISTA在T细胞异质性、免疫耐受,以及T细胞静息和活化间的平衡等方面发挥的作用,为我们了解免疫治疗的机制打开了另一扇窗。

参考文献

1. MA ElTanbouly et al., VISTA is a checkpoint regulator for naïve T cell quiescence and peripheral tolerance. *Science*. 367, eaay0524 (2020).

如需查看完整的文献列表,请访问 10xgenomics.com/publications



获取最新资讯

请关注 10x Genomics 公众号

请访问 10xgenomics.com/cn 了解更多

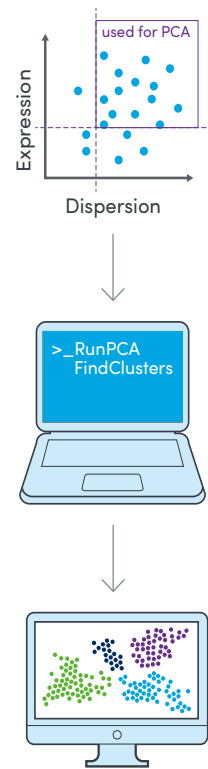


图1. 聚类分析的步骤。对于数据集中存在的所有基因,只有那些离散值和表达值高于阈值的基因才用于主成分分析,这可以降低复杂数据集的维度。采用排名前15的成分,Seurat中的FindClusters函数开展无监督的聚类,从而确定了细胞簇。

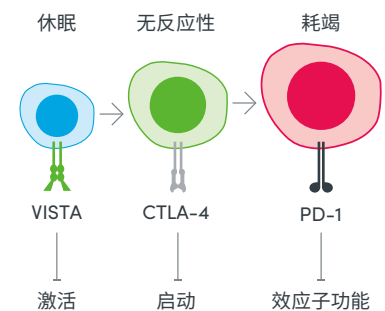


图2. VISTA与其他免疫检查点调控因子一起促进了免疫调控。随着T细胞的成熟,免疫检查点调控因子在不同阶段阻断免疫活化。在初始T细胞上表达的VISTA促进了静息状态。在活化T细胞上表达的CTLA-4在启动阶段阻断了T细胞的共刺激。PD-1在后期表达,抑制了耗竭T细胞的效应功能。