

## Poster P.18.126

### MODELLING THE EMBRYONIC ORIGIN OF OMENN SYNDROME AUTO-REACTIVE T-CELLS

Cascione S.\*, Rigoni R., Squadrito M., Villa A., Ditadi A.

*Telethon Institute for Gene Therapy (SR-Tiget) ~ Milano ~ Italy*

Omenn Syndrome (OS) comprises a genetically heterogeneous group of blood disorders characterized by the contradictory coexistence of immunodeficiency and autoimmunity (1).

This paradoxical phenotype can be associated with different mutations, the most frequent being IL7R-deficiency and the hypomorphic mutations in RAG genes, which severely impair but do not abolish the V(D)J recombination in lymphoid cells (2, 3). This profoundly affects T- and B-cells development, leading to the SCID phenotype. On the other hand, autoreactive T-cells, showing a highly restricted TCR usage with common specificity across patients, are present in the skin and intestine, where they trigger the typical autoimmune inflammation (4).

The characteristics of the residual OS T-cells prompted us to evaluate the contribution of embryonic lymphoid lineages to the disease. In fact, during embryonic development, the first lymphoid progenitors arise in the yolk sac (YS) before the emergence of hematopoietic stem cells (HSCs) and generate, in an IL7-independent manner (5), a subset of oligoclonal, self-responding and self-renewing lymphocytes that colonize the periphery (6, 7).

Based on their similarity to YS-derived T-cells, we speculated that the auto-reactive OS T-cells are generated in the YS independently from HSCs.

Our preliminary data in a RAG2R229Q OS mouse model (8) clearly show that the thymus of these mice is almost completely devoid of CD4+CD8+ (DP) cells, suggesting that OS HSCs cannot produce mature T-cells in vivo.

In vitro assays further demonstrated that adult OS HSPCs cannot give rise to T-cells, while YS-derived progenitors achieve to generate DP cells.

Moreover, we proved that fetal reprogramming of adult OS HSPCs by Lin28 ectopic expression is sufficient to partially rescue the DP T-cells potential, meaning that only embryonic lymphopoiesis is functional in presence of OS mutations.

To unequivocally identify the origin of OS autoreactive lymphocytes, we plan to generate a lineage-tracing system to label hematopoietic progenitors at different time of development and follow their T-cell progeny with a fluorescent reporter. With this tool, by looking at the presence of fluorescent autoreactive T-cells in peripheral tissues of OS adult mice, we will track back their developmental precursor, in an unquestionable manner.

In future, by using patients-derived iPSCs, we aim to translate this study in a human setting.

Taken together, our studies describe the previously unappreciated contribution of YS-derived progenitors to the pool of autoimmune T-cells in OS, underscoring the importance of determining the ontological source to identify new and more specific therapeutic targets.

#### STUDIO DELL'ORIGINE EMBRIONALE DEI LINFOCITI T AUTOREATTIVI NELLA SINDROME DI OMENN

La sindrome di Omenn è una patologia peculiare per la coesistenza nello stesso paziente di immunodeficienza e autoimmunità.

È causata da mutazioni in geni coinvolti nel processo di maturazione dei linfociti B e T che rendono i pazienti altamente suscettibili alle infezioni sin dai primi mesi di vita.

Diversamente dalle immunodeficienze classiche, la sindrome di Omenn è caratterizzata dalla residua presenza di pochi cloni linfocitari che si espandono e si attivano in periferia, causando danni ai tessuti

e reazioni autoimmuni.

Se non trattati con trapianto di midollo, i bambini affetti non sopravvivono alle complicanze della malattia. In attesa di un donatore, essi sono sottoposti a profilassi antimicrobiche e nutrizione parenterale, ma nessuna terapia è applicata per contrastare le gravi reazioni autoimmuni, che rappresentano anche la prima causa di insuccesso dei trapianti.

Attualmente si crede che i linfociti responsabili dell'autoimmunità derivino da pochi cloni "favoriti", che per la loro maturazione richiedono una minore attività dei fattori mutati nella sindrome di Omenn.

Questa spiegazione può giustificare il perché questi linfociti siano oligoclonali, ma non perché siano auto-reattivi e periferici.

La nostra ipotesi è che le mutazioni Omenn abbiano un impatto diverso sulla maturazione di progenitori linfoidi di diversa origine.

La maggior parte dei linfociti del nostro corpo è prodotta dalle cellule staminali ematopoietiche (CSE) che risiedono nel midollo osseo.

Durante lo sviluppo embrionale, esiste un programma di linfopoiesi, indipendente dalle CSE, che genera linfociti oligoclonali e auto-reattivi che si localizzano nei tessuti periferici, dove si rigenerano fino all'età adulta.

Per le somiglianze tra i linfociti di origine embrionale e quelli residui della patologia, noi ipotizziamo che le uniche cellule B e T in grado di formarsi in presenza di mutazioni Omenn, siano quelli derivanti da precursori embrionali indipendenti dalle staminali ematopoietiche del midollo.

In un modello murino della malattia, abbiamo dimostrato che le CSE non sono in grado di produrre linfociti maturi sia in vivo che in vitro, mentre i precursori ematopoietici embrionali lo sono.

Inoltre, abbiamo provato che la riprogrammazione di cellule staminali adulte allo stadio di progenitori embrionali è sufficiente a ripristinare il potenziale linfoide di queste cellule, confermando che l'unico programma di linfopoiesi attivo nella malattia è quello embrionale.

Il fine ultimo di questo progetto è la realizzazione di un modello umano della sindrome di Omenn, ricapitolando i differenti programmi di linfopoiesi tramite l'utilizzo di cellule staminali pluripotenti indotte derivanti da pazienti.

Tale risorsa sarebbe di fondamentale importanza per lo studio approfondito dei meccanismi di patogenesi e per la realizzazione di terapie più specifiche per l'autoimmunità Omenn.

1. Villa, A., L.D. Notarangelo, and C.M. Roifman, Omenn syndrome: inflammation in leaky severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*, 2008. 122(6): p. 1082-6.
2. Notarangelo, L.D., et al., Human RAG mutations: biochemistry and clinical implications. *Nat Rev Immunol*, 2016. 16(4): p. 234-46.
3. Giliani, S., et al., Omenn syndrome in an infant with IL7RA gene mutation. *J Pediatr*, 2006. 148(2): p. 272-4.
4. Rieux-Laucat, F., et al., Highly restricted human T cell repertoire in peripheral blood and tissue-infiltrating lymphocytes in Omenn's syndrome. *J Clin Invest*, 1998. 102(2): p. 312-21.
5. Carvalho, T.L., et al., Arrested B lymphopoiesis and persistence of activated B cells in adult interleukin 7(-/-) mice. *J Exp Med*, 2001. 194(8): p. 1141-50.
6. Yoshimoto, M., et al., Embryonic day 9 yolk sac and intra-embryonic hemogenic endothelium independently generate a B-1 and marginal zone progenitor lacking B-2 potential. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011. 108(4): p. 1468-73.
7. Gentek, R., et al., Epidermal gammadelta T cells originate from yolk sac hematopoiesis and clonally self-renew in the adult. *J Exp Med*, 2018. 215(12): p. 2994-3005.
8. Marrella, V., et al., A hypomorphic R229Q Rag2 mouse mutant recapitulates human Omenn syndrome. *J Clin Invest*, 2007. 117(5): p. 1260-9.

Sindrome di Omenn

Coordinator: Ditadi Andrea  
Duration (N. Years): 5  
Starting year: 2016

**Telethon Project (nr):**

TGT16C04

**Disease Name:**

Omenn Syndrome

**Keywords:**

Immunodeficiency, Autoimmunity, Embryonic lymphopoiesis