

結核菌による宿主自然免疫応答の制御

原 博満

1. 結核菌のニッチと宿主免疫応答

結核は結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) による感染症であり、世界で毎年およそ150万人の命を奪っている。結核菌は飛沫核により感染するが、速やかに結核を発症するのはその5%程度である。これは結核菌が宿主免疫による攻撃から逃れるため休眠状態に入るためであり、免疫系は休眠菌を駆逐することができず、感染者の約95%は無症候キャリア (潜在性結核) となる。世界人口の1/3にあたる約20億人がこの状態にあるとされ、このうち5~10%が内因性再燃 (休眠結核菌の再活性化) により活動性結核を発症する。休眠状態の結核菌は宿主免疫系による攻撃を逃れ、抗結核薬にも耐性を示す。内因性再燃の原因となるのが老化や免疫力の低下であり、特にヒト免疫不全ウイルス (HIV) の蔓延は途上国での結核の再興を促している。また、先進国においては抗TNF抗体による炎症疾患の治療が再燃を誘発することが知られており、このことはTNFが結核菌の封じ込めに重要なサイトカインであることを示している。

結核菌などの細胞内寄生細菌に対する防御免疫はTh1細胞とマクロファージが主体となる。マクロファージは貪食によりファゴソーム内に細菌を取り込み、ファゴソームとリソソームが融合 (PL融合) してファゴリソームを形成することで殺菌が行われる。パターン認識受容体を介した刺激やTh1が産生するIFN γ やTNFは、このマクロファージの殺菌性を著しく上昇させる。このような殺菌性の高いマクロファージをM1マクロファージと呼び、活性化により誘導される一酸化窒素 (NO) はファゴリソーム内での殺菌に重要な役割を演じる。しかし、結核菌はPL融合を阻害するとともに、許容的マクロファージと呼

ばれるTNFやNO産生が低い特殊なマクロファージを誘導することでその中に潜伏し、宿主免疫系による攻撃を回避すると考えられている。

2. 結核菌の細胞壁脂質による免疫制御

結核菌はその細胞壁に特有の脂質を豊富に有しており、これがさまざまな物理化学的環境や薬剤に対する耐性を菌に賦与する。結核菌の持続感染性は β 酸化とグリオキシル酸代謝経路に依存しており、感染宿主内では脂質を主な炭素源として増殖する。結核菌の細胞壁脂質には宿主免疫を賦活化 (TDM, GMM, Man-LAM, PIMなど: 図1) あるいは抑制 (PGL, SL-1, fMAなど: 図1) する成分が含まれることが知られ、その生合成経路や機能が盛んに研究されてきた。休眠結核菌の細胞壁脂質の成分構成は活動性結核菌のそれと大きく異なることから、表層を覆う脂質の変化とそれを認識する宿主免疫受容体の平衡が休眠と再燃を制御する可能性が示唆されている¹⁾。細胞壁を構築する脂質の主成分であるミコール酸 (mycolic acid: MA) は、きわめて長鎖 (C₇₀₋₉₀) の分岐アシル鎖を有する *Mycobacterium* 属特有の脂肪酸である²⁾。代表的な抗結核薬であるイソニアジド (INH) はMA生合成を阻害する薬剤であり、したがってMAは結核菌の生存に必須の脂質である。MAはアラビノガラクトタンと結合して細胞壁骨格 (cell wall cytoskeleton: CWS) を形成するとともに、糖と結合した形 (MA糖脂質) や遊離ミコール酸 (free MA: fMA) の状態で細胞壁の表層に発現する (図1)。これらMA含有脂質の構成は菌の生活環や外部環境に依存して大きく変容し、宿主の免疫応答にも影響を及ぼす。MA糖脂質であるトレハロースジミコール酸 (trehalose-di-mycolate: TDM) やグルコースジミコール酸 (glucose mono-mycolate: GMM) は活動性 (増殖性) 結核菌に多く発現し、強いアジュバント活性を持ち、動物に静脈投与すると肺に肉芽腫を誘導する。一方、休眠結核菌では糖脂質の合成が減少し、fMAやグリセロールモノミコール酸 (glycerol mono-mycolate: GroMM) の発現が優位となる。肉芽腫内部は低酸素状態であり、この酸素分圧の低下が休眠を促すといわれているが、結核菌を低酸素状態にすると、TDMを加水分解するセリンエステラーゼが活性化し、トレハロースが外れてfMAが遊離する³⁾。細胞壁からのMAのインポートに関

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科免疫学分野 (〒890-8544 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1)

Control of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*
Hiroimitsu Hara (Department of Immunology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima-city, Kagoshima 890-8544, Japan)
 本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2023.950618

© 2023 公益社団法人日本生化学会

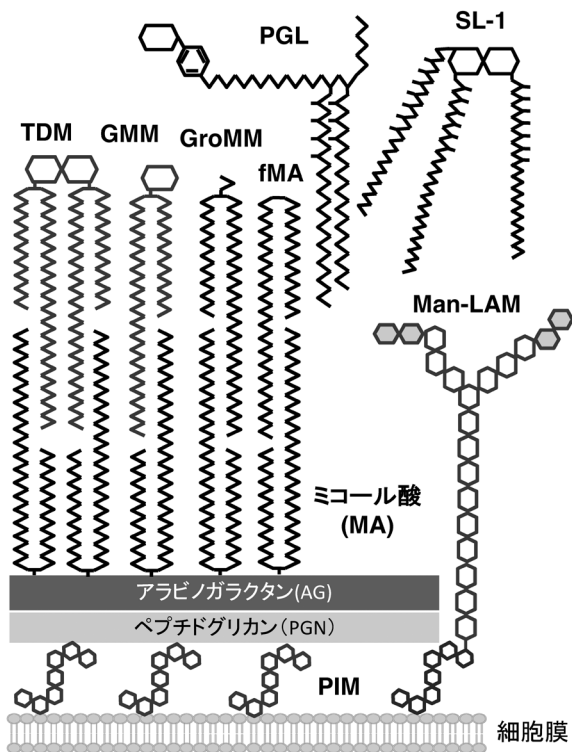


図1 結核菌の細胞壁を構成する脂質成分

TDM : trehalose di-mycolate, GMM : glucose mono-mycolate, GroMM : glycerol mono-mycolate, fMA : free mycolate, PGL : phenolic glycolipid, Man-LAM : mannose-capped lipoarabinomannan, SL-1 : sulfolipid-1, PIM : phosphatidylinositol mannoside

与する *mce1* オペロンの発現は、宿主感染後数週間かけて徐々に低下し、その結果、細胞壁の fMA 含量が増加する。*mce1* オペロンを欠損した結核菌は野生型に比べ細胞壁の fMA 含量が約7倍に増加し、細胞壁が肥厚し、病原性が著しく上昇する^{4,5)}。fMA は Toll 様受容体2 (TLR2) を介したマクロファージや肺上皮細胞の炎症性応答を抑制し⁶⁾、また、バイオフィルムの主成分となって薬剤耐性にも寄与することが報告されている⁷⁾。GroMM の免疫学的活性に関する報告は少ないが、杉田らは、GroMM を高発現する BCG 菌のモルモットへの接種により、抗酸菌浸潤を特徴とする Th2 型の皮内反応が誘導されることを報告している⁸⁾。

3. C型レクチンを介した結核菌脂質の認識と応答

TDM を認識する宿主自然免疫応答に関しては、TLR2 や TLR4 と、その下流の MyD88 の関与が示唆されていた。しかし、TLR2/4 の欠損は結核菌の感受性に大きく影響しないことから、未知の受容体の存在が予想されていた。石川・山崎らは、C型レクチン受容体 (CLR) である Mincle が TDM を認識することを同定した⁹⁾。Mincle は FcR γ 鎖

に会合する受容体であり、下流の CARD9-Bcl10 シグナルを介してマクロファージを活性化する。Mincle、FcR γ 鎖、CARD9 を欠損したマウス由来のマクロファージは、いずれも TDM に応答した TNF や NO 産生が完全に消失し、TDM の静脈投与による肺肉芽腫形成もほぼ完全に失われることから、Mincle が TDM に対する自然免疫応答を担う主要な受容体であるといえる。さらに山崎らは、免疫賦活活性を有する別の細胞壁糖脂質である mannose-capped lipoarabinomannan (Man-LAM) や phosphatidylinositol monomannoside (PIM) (図1) が、FcR γ 鎖と会合する別の CLR である Dectin-2, DCAR によってそれぞれ認識され、抗結核菌免疫応答を誘導することを見いだした¹⁰⁾。また、CARD9 欠損マウスは結核菌に対する感受性が著しく高まることも報告されている¹¹⁾。したがって、CLR による糖脂質の認識と FcR γ -CARD9 シグナルの活性化が、結核菌防御に寄与する殺菌的マクロファージの誘導に重要な役割を演じているといえる。

4. TREM2 による抗結核免疫応答の制御

FcR γ 鎖を介したシグナルが抗-結核菌免疫応答を誘導するのにに対し、FcR γ 鎖と同様にさまざまな宿主受容体と会合する ITAM 含有アダプター分子である DAP12 の欠損マウスでは、BCG 菌や結核菌の感染による肺肉芽腫の形成が野生型マウスに比べて促進され、肺内菌数も低く抑えられることが報告されている^{12,13)}。このことは、DAP12 に会合し、抗-結核菌免疫応答を負に制御する受容体が存在する可能性を示唆している。我々はマクロファージに発現し、結核菌を認識する新規 ITAM 共役型受容体を探索した結果、Ig スーパーファミリー受容体に属する TREM2 を同定した¹⁴⁾。TREM2 は DAP12 に会合する受容体であり、DAP12 や TREM2 の欠損は那須・ハコラ病の原因遺伝子として知られる。また、TREM2R47H パリアントは孤発性アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患のリスク因子となることが報告されている¹⁴⁾。さまざまな炎症性疾患において TREM2 発現マクロファージの免疫抑制的役割が示唆されており¹⁵⁾、たとえば、がん関連マクロファージは TREM2 を高発現し、TREM2 を介してがんの免疫抑制に寄与することが報告されている。

我々は、TREM2 が認識する結核菌成分を探索した結果、TREM2 が MA 含有脂質を認識することを見いだした。Mincle も MA 含有脂質 TDM を認識することから、我々は、MA 糖脂質 (TDM, GMM) と非糖付加 MA (GroMM, fMA) に対する Mincle と TREM2 の親和性の比較を行った。その結果、Mincle は TDM や GMM に対して高い親和性を示すが、GroMM に対する親和性はきわめて弱く、遊離 MA に

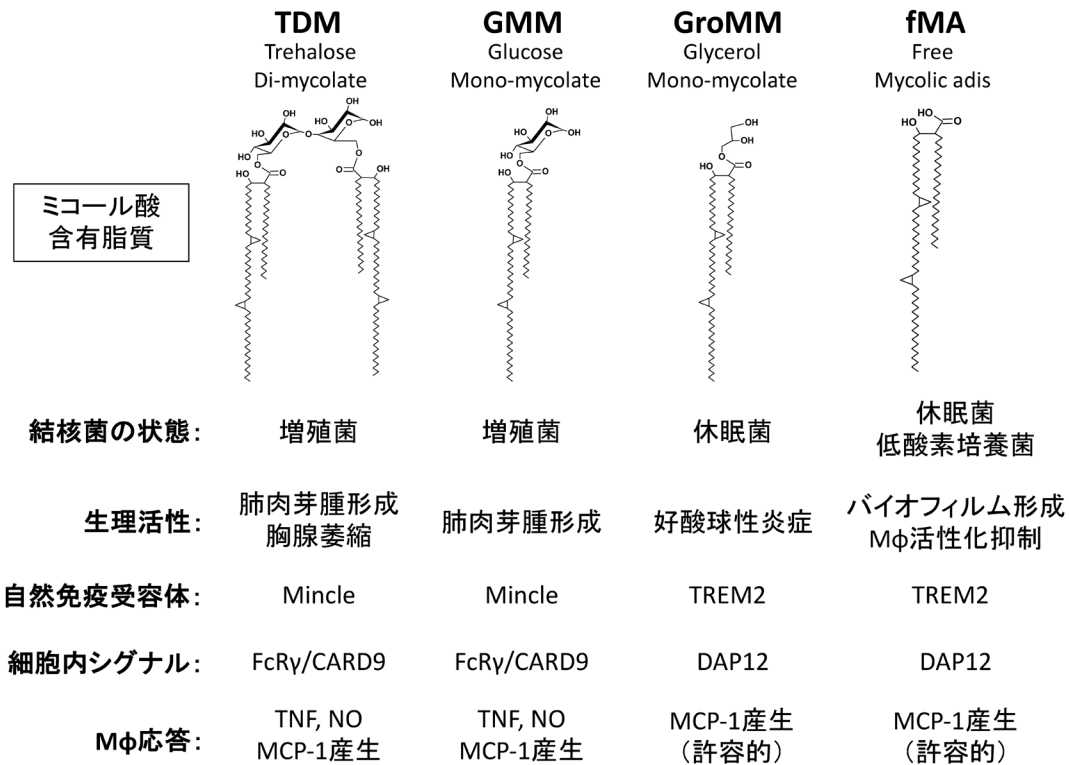


図2 ミコール酸含有脂質の変容と宿主免疫応答への影響

はまったく結合しないこと、逆にTREM2はGroMM, fMAに対する親和性が高いが、MA糖脂質に対する親和性は著しく低いことがわかった。次に、Mincle, TREM2, FcR γ 鎖, DAP12の欠損マウスからそれぞれ腹腔マクロファージを単離し、MA含有脂質に対する応答性(MCP-1, TNF産生)を野生型と比較した。野生型マクロファージはMA糖脂質に反応するとTNFとMCP-1の両方を産生し、これらの産生はMincleやFcR γ 鎖の欠損により完全に消失した。すなわち、MincleはTDMのみならずGMMに対する応答にも必須であることがわかった。一方、野生型マクロファージを非糖付加MAで刺激するとTNF産生はまったく誘導されず、MCP-1のみの産生がみられ、このMCP-1産生はTREM2やDAP12の欠損によりほぼ完全に消失した。一方、MincleやFcR γ 鎖欠損はこれにまったく影響しなかった。面白いことに、MA糖脂質が誘導するTNF産生はCARD9欠損により完全に失われたが、MCP-1産生にはまったく影響しなかった。同様に、非糖付加MAによるMCP-1産生もCARD9に依存しないことがわかった。以上より、MA糖脂質はMincle、非糖付加MAはTREM2によって認識され、異なるマクロファージ応答を引き起こすことが明らかになった(図2)。

さらに、TREM2やDAP12を欠損したマクロファージではMA糖脂質に対する応答(TNF, NO, MCP-1産生)が増強することを我々は見いだした。そこで、TDMをマウス

に静脈投与することで誘導される肺の肉芽腫形成や胸腺萎縮反応(MincleとCARD9依存性)を観察したところ、TREM2欠損マウスは野生型マウスに比べこれらの炎症応答が著しく促進されることがわかった。次に、擬似結核菌感染試験として*Mycobacterium bovis* BCG(ウシ型結核菌由来の弱毒株)の肺感染試験を実施し、菌の排除能を調べた結果、TREM2欠損マウスでは野生型に比べ菌の排除が有意に促進されることがわかった。以上より、TREM2がMincle-FcR γ -CARD9経路を介した肺肉芽腫形成や殺菌的マクロファージ活性化を負に制御することが明らかとなった。

以上の結果から、我々は次の仮説を提唱するに至った(図3)。活動性結核菌はその細胞壁に豊富にMA糖脂質が存在し、これらの脂質はMincle-FcR γ -CARD9シグナルを活性化してNO, TNF産生、肉芽腫形成などの抗結核菌免疫応答を引き起こす。しかし、結核菌が休眠状態に近づき、細胞壁の糖脂質合成が低下して非糖付加MAの産生が増加すると、TREM2を介した応答が優位となる。TREM2はマクロファージ走化性因子MCP-1を誘導することでNOやTNFを産生しない許容的マクロファージを局所に動員する。さらに、TREM2-DAP12シグナルは未知の機構でMincleを介した殺菌的マクロファージ活性化を抑制する。したがって、結核菌はTREM2を利用することでニッチとなる許容的マクロファージを誘導し、持続感染を可能

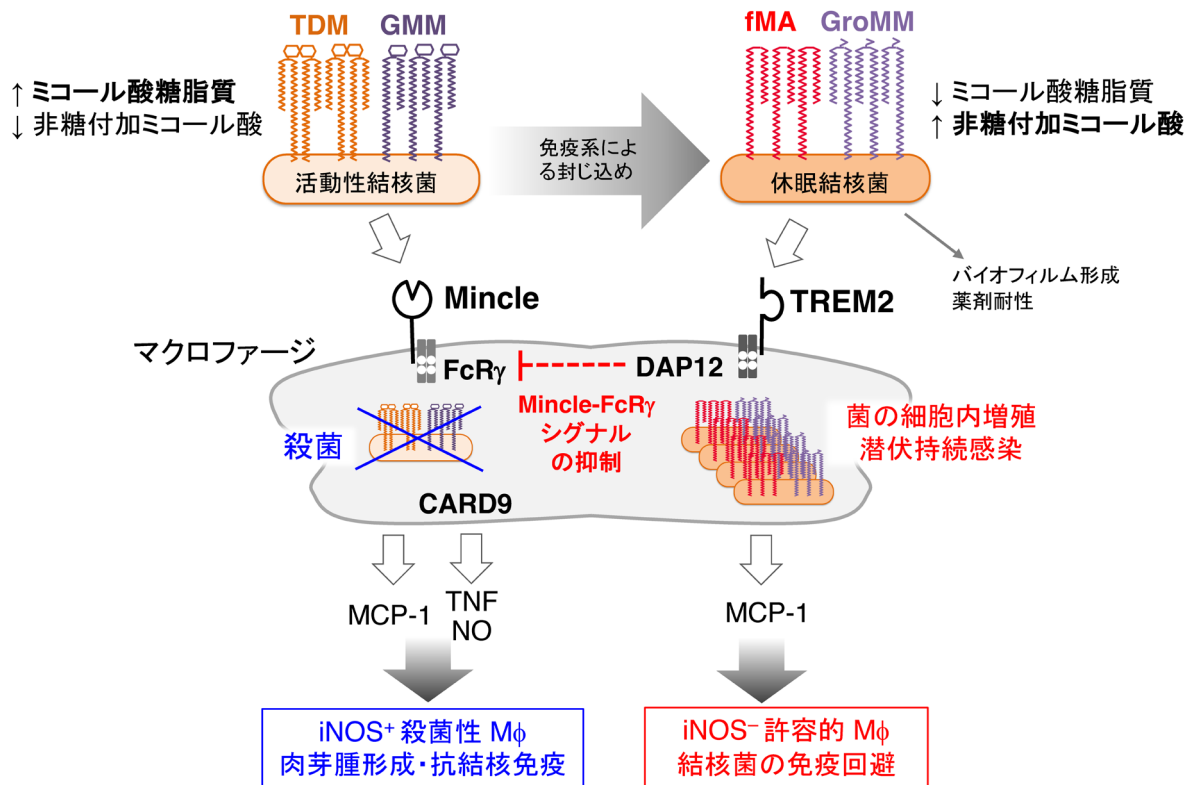


図3 TREM2を介した結核菌の免疫回避仮説

にしている可能性が考えられる。今後、TREM2を介したMincleシグナルの抑制機構と、高病原性結核菌の免疫制御におけるTREM2の役割に関して明らかにしていきたいと考えている。

謝辞

TREM2を介した抗酸菌自然免疫応答の制御に関する研究でご尽力いただいた共同研究者の皆様にご心より感謝を申し上げます。

文 献

- Queiroz, A., Riley, L.W., Queiroz, A., & Riley, L.W. (2017) Bacterial immunostat: Mycobacterium tuberculosis lipids and their role in the host immune response. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **50**, 9–18.
- Marrakchi, H., Lanéelle, M.-A., & Daffé, M. (2014) Mycolic acids: Structures, biosynthesis, and beyond. *Chem. Biol.*, **21**, 67–85.
- Bacon, J., Alderwick, L.J., Allnut, J.A., Gabasova, E., Watson, R., Hatch, K.A., Clark, S.O., Jeeves, R.E., Marriott, A., Rayner, E., et al. (2014) Non-replicating Mycobacterium tuberculosis elicits a reduced infectivity profile with corresponding modifications to the cell wall and extracellular matrix. *PLoS One*, **9**, e87329.
- Cantrell, S.A., Leavell, M.D., Marjanovic, O., Iavarone, A.T., Leary, J.A., & Riley, L.W. (2013) Free mycolic acid accumulation in the cell wall of the mce1 operon mutant strain of Mycobacterium tuberculosis. *J. Microbiol.*, **51**, 619–626.
- Shimono, N., Morici, L., Casali, N., Cantrell, S., Sidders, B., Ehrt, S., & Riley, L.W. (2003) Hypervirulent mutant of Mycobacterium tuberculosis resulting from disruption of the mce1 operon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 15918–15923.
- Sequeira, P.C., Senaratne, R.H., & Riley, L.W. (2014) Inhibition of toll-like receptor 2 (TLR-2)-mediated response in human alveolar epithelial cells by mycolic acids and Mycobacterium tuberculosis mce1 operon mutant. *Pathog. Dis.*, **70**, 132–140.
- Ojha, A.K., Trivelli, X., Guerardel, Y., Kremer, L., & Hatfull, G.F. (2010) Enzymatic hydrolysis of trehalose dimycolate releases free mycolic acids during mycobacterial growth in biofilms. *J. Biol. Chem.*, **285**, 17380–17389.
- Hattori, Y., Matsunaga, I., Komori, T., Urakawa, T., Nakamura, T., Fujiwara, N., Hiromatsu, K., Harashima, H., & Sugita, M. (2011) Glycerol monomycolate, a latent tuberculosis-associated mycobacterial lipid, induces eosinophilic hypersensitivity responses in guinea pigs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **409**, 304–307.
- Ishikawa, E., Ishikawa, T., Morita, Y.S., Toyonaga, K., Yamada, H., Takeuchi, O., Kinoshita, T., Akira, S., Yoshikai, Y., & Yamasaki, S. (2009) Direct recognition of the mycobacterial glycolipid, trehalose dimycolate, by C-type lectin Mincle. *J. Exp. Med.*, **206**, 2879–2888.
- Ishikawa, E., Mori, D., & Yamasaki, S. (2017) Recognition of Mycobacterial lipids by immune receptors. *Trends Immunol.*, **38**, 66–76.
- Dorhoi, A., Desel, C., Yermeev, V., Pradl, L., Brinkmann, V., Mollenkopf, H.J., Hanke, K., Gross, O., Ruland, J., & Kaufmann, S.H. (2010) The adaptor molecule CARD9 is essen-

- tial for tuberculosis control. *J. Exp. Med.*, **207**, 777–792.
- 12) Divangahi, M., Yang, T., Kugathasan, K., McCormick, S., Takenaka, S., Gaschler, G., Ashkar, A., Stampfli, M., Gauldie, J., Bramson, J., et al. (2007) Critical negative regulation of type 1 T cell immunity and immunopathology by signaling adaptor DAP12 during intracellular infection. *J. Immunol.*, **179**, 4015–4026.
- 13) Jeyanathan, M., McCormick, S., Lai, R., Afkhami, S., Shaler, C.R., Horvath, C.N., Damjanovic, D., Zganiacz, A., Barra, N., Ashkar, A., et al. (2014) Pulmonary M. tuberculosis infection de-
- lays Th1 immunity via immunoadaptor DAP12-regulated IRAK-M and IL-10 expression in antigen-presenting cells. *Mucosal Immunol.*, **7**, 670–683.
- 14) Iizasa, E., Chuma, Y., Uematsu, T., Kubota, M., Kawaguchi, H., Umemura, M., Toyonaga, K., Kiyohara, H., Yano, I., Colonna, M., et al. (2021) TREM2 is a receptor for non-glycosylated mycolic acids of mycobacteria that limits anti-mycobacterial macrophage activation. *Nat. Commun.*, **12**, 2299.
- 15) Colonna, M. (2023) The biology of TREM receptors. *Nat. Rev. Immunol.*, **23**, 1–15.

著者寸描

●原 博満 (はら ひろみつ)



鹿児島大学大学院医歯学総合研究科感染防御学講座免疫学分野 教授。博士 (医学)

■略歴 1992年九州大農卒, 94年同大院遺資工修士修了, 同年ユニチカ(株)研究員, 2001年九州大院医博士修了, 同年カナダ Amgen/OCI 研究員, 04年理研RCAI 研究員, 06年佐賀大医免疫学准教授, 14年より現職。

■研究テーマと抱負 免疫に関する面白いと思う研究はなんでも取り組みます。現在は, 免疫受容体のシグナル伝達, 結核菌・らい菌の免疫制御, アレルギーとかゆみ, 癌や慢性炎症疾患の免疫細胞療法などの研究を進めています。院生・ポスドク募集中。

■ウェブサイト 大学HP : <https://www2.kufm.kagoshima-u.ac.jp/field/health-research/f003/02.html>

Twitter : <https://twitter.com/kadaimeneki>

■趣味 料理, 野球。