

41. 結核菌の免疫制御と長期潜伏感染機構の解明

原 博満

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

Key words : 結核, マクロファージ, 自然免疫, 脂質

緒言

結核は結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* による感染症であり、毎年およそ 150 万人が結核により命を奪われる。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。これは宿主免疫から逃れるため結核菌が休眠状態になるためであり、免疫系は休眠結核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。再燃の原因となるのが老化や免疫力の低下であり、特に HIV の蔓延は途上国での結核の再興を促している。

マクロファージは結核菌に対する防御免疫の主体となる免疫細胞であるが、同時に結核菌のニッチでもある。IFN γ と TNF の作用によって誘導される一酸化窒素 (NO) は細胞内寄生細菌の殺菌に重要であるが、結核菌はファゴリソソームの形成を阻害し、NO 合成酵素 (iNOS) や TNF の発現が低い「許容的マクロファージ」と呼ばれる非殺菌的マクロファージを誘導し、この細胞をニッチとして増殖、潜伏感染すると考えられている。

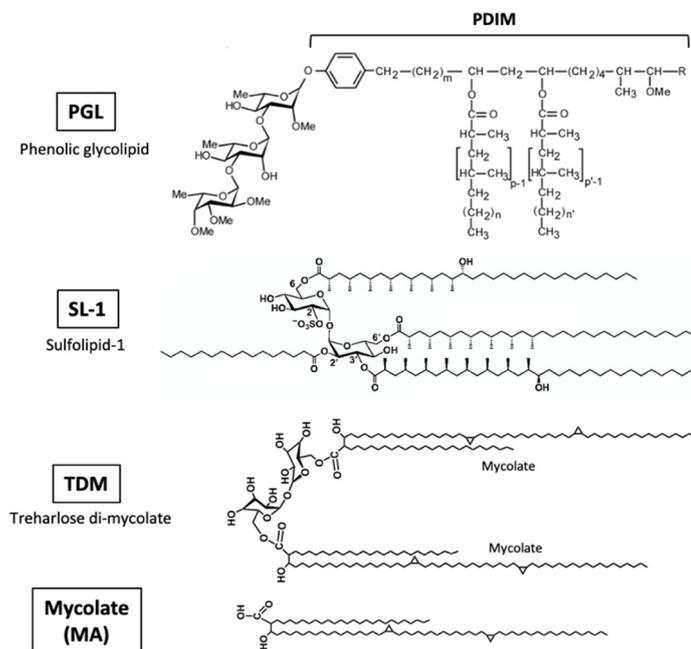


図 1. 結核菌が発現する細胞壁脂質 PGL、SL-1、TDM、MA の構造

抗酸菌は細胞壁に豊富な脂質を有する。その主成分であるミコール酸 (Mycolate : MA) (図 1) は、細胞壁骨格を形成するとともに様々な遊離形態で細胞壁表層に発現する。MA 含有脂質の構成は菌の生活環や生育環境に応じてダイナミックに変容する。例えば、MA を含む糖脂質 (Treharose-di-mycolate : TDM (図 1) や 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や肺肉芽腫形成能を有することが知られる。一方、休眠結核菌ではこれらのMA糖脂質の合成が減少し、遊離ミコール酸 (fMA) や glycerol mono-mycolate (GroMM) などの非糖付加 MA 脂質の発現が優位となる。fMA はある種の高病原性株において高産生されることがや、マクロファージの活性化を抑制するなどの報告があり、GroMM は好酸球浸潤を特徴とする II 型炎症応答を惹起することが報告されている。従って、MA 脂質の構成変化が免疫応答の変換をもたらし、結核菌の休眠、再燃の平衡や免疫回避に関わっている可能性がある。高病原性結核菌 W 北京株の細胞壁表層に発現するフェノール糖脂質 (PGL) (図 1) は、iNOS の誘導を抑制し、ケモカイン MCP-1 の産生を介して菌のニッチとなる iNOS 陰性の許容的マクロファージを動員する。Sulfolipid-1 (SL-1) (図 1) もまた一部の結核菌種が発現する細胞壁脂質であり、その含有量は菌の病原性と比例することが知られているが、その作用機構は不明である。

免疫賦活活性を有する抗酸菌糖脂質の宿主受容体として C 型レクチン受容体 (CRL) Mincle、Dcetin-2、MCL、DCAR などが同定されている。これらの CLR は全て Immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) を有するシグナリングアダプター FcR γ 鎖と会合して細胞内シグナルを活性化する受容体であり、iNOS 陽性の M1 型マクロファージ分化や肺肉芽腫形成などの抗抗酸菌的免疫応答を誘導する。一方、FcR γ と同じ ITAM 含有アダプター分子である DAP12 も様々なマクロファージ上の受容体と会合するが、*DAP12* 欠損マウスでは BCG 菌や結核菌の肺感染時の肉芽腫形成が促進され、野生型に比べ肺内菌数も低く抑えられることから、抗抗酸菌免疫応答を負に制御する DAP12 会合型の宿主受容体の存在が推定される。

方法および結果

1. ミコール酸受容体の同定

我々は、独自に作製した ITAM 共役受容体-Fc 融合蛋白質ライブラリーを用い、抗酸菌に結合する受容体のスクリーニングを行った。その結果、DAP12 に会合することが報告されている TREM ファミリー受容体 TREM2 を同定した。TREM2 が認識する抗酸菌成分を探索した結果、TREM2 は MA 含有脂質に結合性を示すことを見出した。C 型レクチン Mincle も MA 含有脂質である TDM を認識することから、我々は糖が付加した MA 糖脂質 (TDM、GMM) と付加しない非糖付加 MA 脂質 (GroMM、fMA) について Mincle と TREM2 の親和性の比較を行った。その結果、Mincle は MA 糖脂質に対して高い親和性を示したが、GroMM には弱く、fMA には全く結合しないこと、逆に TREM2 は非糖付加 MA 脂質に対する親和性が高く、MA 糖脂質に対する親和性が低いことが判った。次に、*Mincle* および *TREM2* 欠損マウスを用いて、マクロファージの MA 含有脂質に対する応答性を調べた結果、MA 糖脂質に対するマクロファージ応答 (NO、TNF、MCP-1 の産生) は Mincle に依存し、非糖付加 MA 脂質に対するマクロファージ応答 (MCP-1 のみ産生する許容的活性化) は TREM2 に依存することがわかった (図 2A)。さらに、*TREM2* 欠損によって、マクロファージの Mincle を介した応答や、TDM をマウスに投与した際に誘導される炎症反応 (肺肉芽腫形成、胸腺萎縮) が増強されることを見出した (図 2B)。また、*TREM2* 欠損マウスは野生型に比べ、肺感染させた BCG 菌の排除が促進されることが判った [1]。

2. PGL 受容体の同定

我々は、PGL に結合する受容体 (PGLR) を同定した。PGL は、非糖付加 MA と同様に MCP-1 産生を特徴とする許容的マクロファージ活性化を誘導し、この応答が PGLR と DAP12 に依存することを見出した。

3. SL-1 の作用機序の解明

我々は、TDM と SL-1 の構造類似性 (図 1) に着目し、Mincle のリポーター細胞を用いて SL-1 への結合活性を調べた結果、Mincle が SL-1 に結合することを見出した。SL-1 と TDM の Mincle への親和性は同等であったが、SL-1 は TDM に比べマクロファージ活性化能が著しく低いことがわかった。従って、SL-1 は Mincle のアゴニストと競合することで Mincle の活性化を抑制している可能性が示唆された。

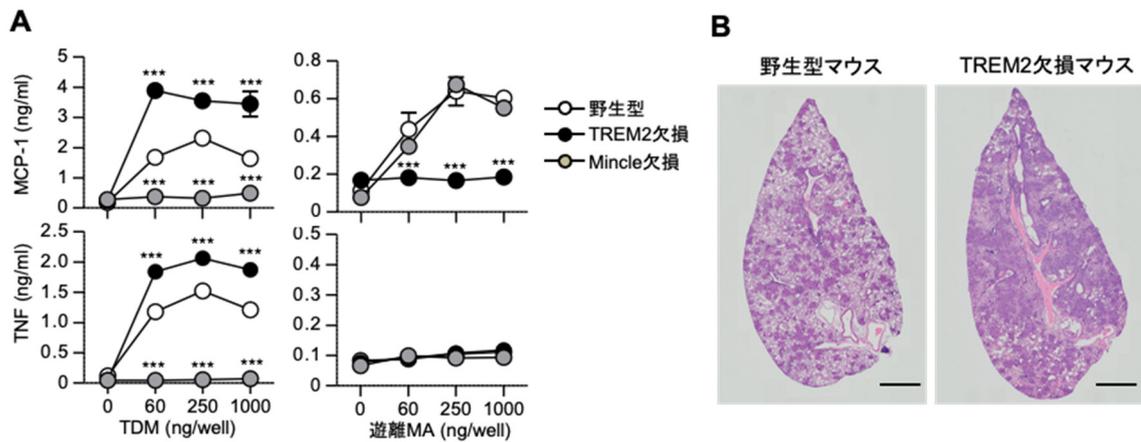


図2. *TREM2* 欠損は Mincle を介したマクロファージ活性化を増強する (文献1 を改変)

- A) 野生型および *TREM2* 欠損腹腔マクロファージの TDM (Mincle リガンド) および遊離 MA (TREM2 リガンド) に対する反応性。*** $p < 0.001$ (Two-way ANOVA followed by Bonferroni's test)。
- B) TDM エマルジョンの経静脈投与による肺に形成される肉芽腫の病理像 *TREM2* 欠損マウスでは肺肉芽腫形成が促される。スケールバー：1 mm。

考 察

TREM2 と Mincle によるミコール酸応答の制御に関して次の仮説に我々は至った (図3)。活動性結核菌は MA 糖脂質の発現が豊富であり、これらの脂質は Mincle を介して NO 産生や TNF 産生、肉芽腫形成などの抗結核菌免疫応答を促進する。一方、結核菌が休眠状態になると糖脂質合成が低下し、非糖付加 MA 脂質の発現が優位になると、*TREM2* を介した応答が促される。*TREM2* はマクロファージ走化性因子 MCP-1 の産生を介して NO や TNF 産生を誘導しない許容的マクロファージを誘導し、細胞内での菌の生存が促される。また、*TREM2* は未知の機構で Mincle を介した応答を抑制する。癌の微小環境においても *TREM2* 依存的に誘導される免疫制御性のマクロファージが報告されており、がんと結核菌は *TREM2* を利用した同様の機構で宿主免疫を回避している可能性が示唆された。

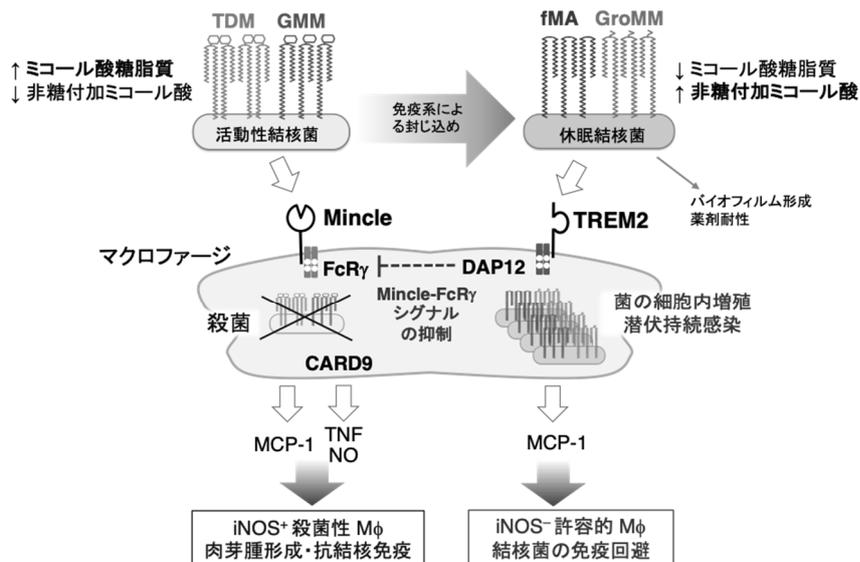


図3. 結核菌ミコール酸含有脂質の変容と *TREM2* を介した結核菌の免疫回避

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、飯笹英一（鹿児島大学）、鬼丸妃奈子（鹿児島大学）、豊永憲司（福岡歯科大学）、吉田裕樹（佐賀大学）、中馬康志（日本 BCG 株式会社中央研究所）、松崎吾朗（琉球大学）、杉田昌彦（京都大学）、山崎晶（大阪大学）、矢野郁也（大阪市立大学）、Marco Colonna（ワシントン大学）である。敬称略。

文 献

- 1) Iizasa E, Chuma Y, Uematsu T, Kubota M, Kawaguchi H, Umemura M, Toyonaga K, Kiyohara H, Yano I, Colonna M, Sugita M, Matsuzaki G, Yamasaki S, Yoshida H, Hara H. TREM2 is a receptor for non-glycosylated mycolic acids of mycobacteria that limits anti-mycobacterial macrophage activation. *Nat Commun.* 2021, 12(1):2299. PMID: 33863908 DOI: 10.1038/s41467-021-22620-3