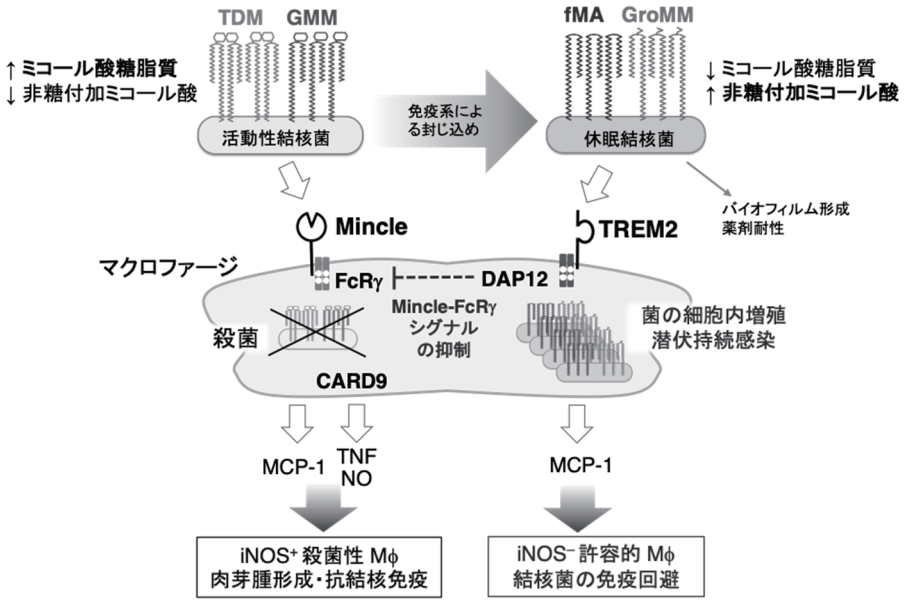
41　結核菌の免疫制御と長期潜伏感染機構の解明	原　博満

【目的】毎年およそ 150 万人が結核により命を奪われる。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。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、この中で増殖、潜伏感染すると考えられている。抗酸菌は細胞壁に豊富な脂質を有する。その主成分はミコール酸（MA）であり、MA は様々な遊離形態で細胞壁表層に発現し、菌の生活環に応じてその構成が変容する。MA 糖脂質（TDM、GMM など）は活動性結核菌に多く発現し、強い免疫賦活活性を有する。一方、休眠結核菌では遊離ミコール酸（fMA）や GroMM などの非糖付加 MA 脂質の発現が優位となる。これらの非糖付加 MA 脂質は、糖脂質とは異なる免疫応答や免疫抑制活性をもつことが報告されており、MA 脂質の構成変化による宿主応答の制御が結核菌の休眠、再燃の平衡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）は許容的マクロファージを動員することで病原性を発揮する。Sulfolipid-1（SL-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。しかし、これら病原性脂質の作用機構は未だ不明な点が多い。

【方法と結果】我々は抗酸菌 MA を認識する新規受容体として TREM2 を同定した。TREM2 は非糖付加ミコール酸に高い親和性、MA 糖脂質には低い親和性を示した。この性質は Mincle のそれと逆相関するものであった。TREM2 は非糖付加 MA 脂質が誘導する許容的マクロファージ活性化に必須であり、さらに、*TREM2* 欠損によって Mincle を介したマクロファージの活性化が増強し、抗酸菌を感染したマウスからの菌排除が促進された。このことは、TREM2 が Mincle を介した抗抗酸菌免疫応答を抑制することで、菌の免疫回避に働いている可能性を示唆していた（下図）。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マクロファージが報告されおり、がんと結核菌が 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考えられた。我々は PGL を認識する受容体（PGLR）を同定した。PGL は、非糖付加 MA と同様に許容的マクロファージ活性化を誘導することを見出し、この応答は PGLR と DAP12 に依存することを見出した。我々は、Mincle が SL-1 を認識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 に比べ殺菌的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 のパーシャルアゴニストとして働いて Mincle 活性化を抑制している可能性が示唆された。

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



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。IFNγ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。

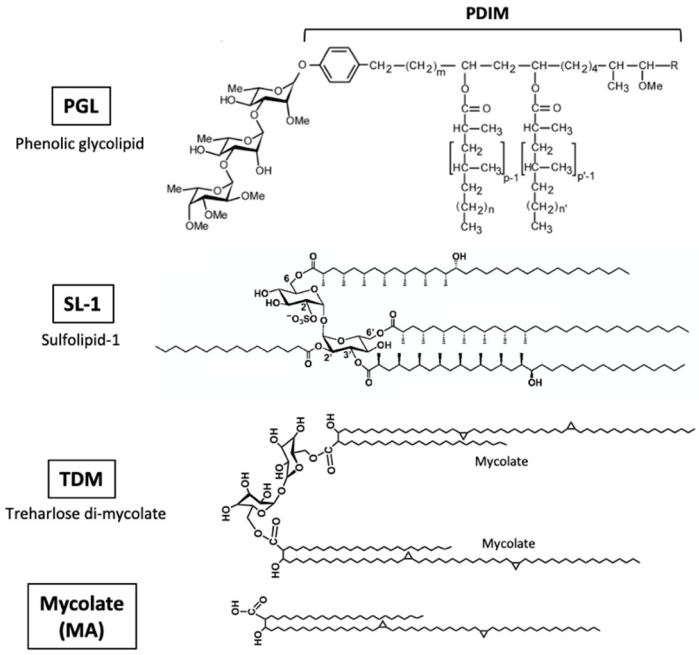


図 1. 結核菌が発現する細胞壁脂質 PGL、SL-1、TDM、MA の構造

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-mycolare：

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FcRγ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、FcRγ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。

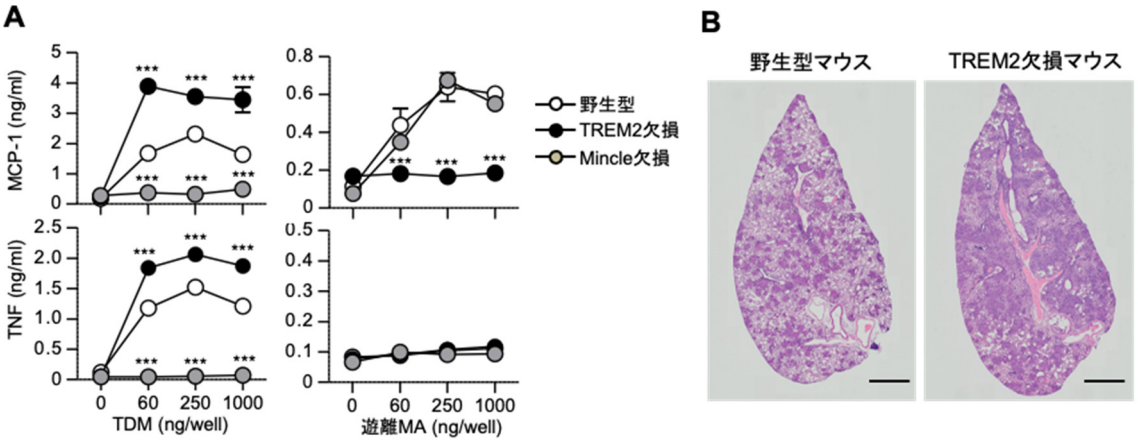


図 2. *TREM2* 欠損は Mincle を介したマクロファージ活性化を増強する（文献 1 を改変）

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）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。

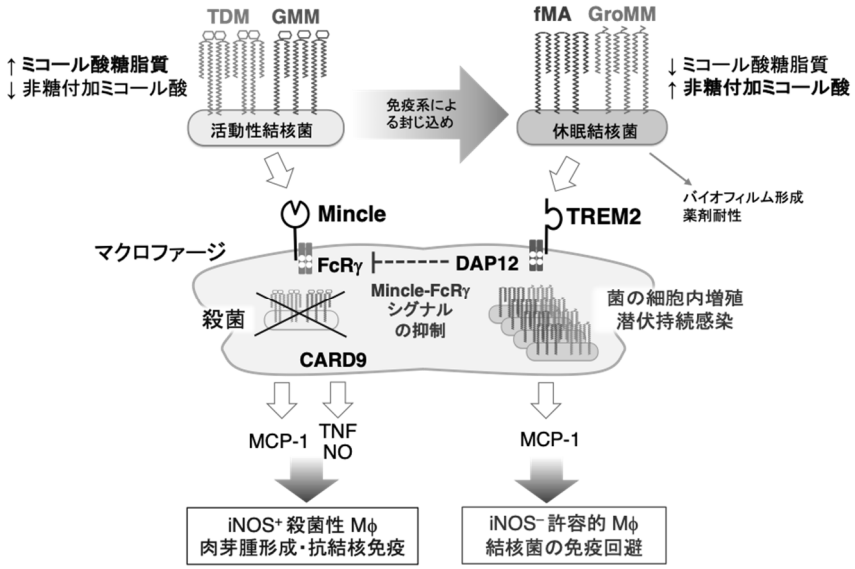


図 3. 結核菌ミコール酸含有脂質の変容と TREM2 を介した結核菌の免疫回避

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）、山﨑晶（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