

第86回総会教育講演

I. 結核の免疫

赤川 清子

要旨：結核菌は、空気感染により効率よくヒトからヒトに感染し、ほんの少量の菌がヒトの肺胞腔に入ることで感染が成立する。肺における結核菌に対する防御免疫応答は、肺胞マクロファージ（肺胞M ϕ ）を中心とした自然免疫応答および多彩なT細胞が関与する適応免疫応答からなる。近年の多くの研究成果から、M ϕ の抗結核菌活性の活性化機構のヒトとマウスの違い、M ϕ の多様性と抗結核菌活性の関係、IL-10によるヒトM ϕ の抗結核菌活性の活性化、結核菌認識レセプターの種類と機能の違い、結核の免疫応答に関与する新たなT細胞としてのTh17細胞やTh22細胞とそれらのT細胞が産生するIL-17やIL-22の作用、制御性T細胞による結核免疫応答の修飾、そしてヒト結核防御免疫へのTNFの新たな作用などが明らかになってきた。これらヒトの結核の免疫に関する新たな知見について概説する。

キーワード：結核、免疫、結核菌認識レセプター、マクロファージ、エフェクターT細胞、TNF

はじめに

結核菌は、空気感染により効率よくヒトからヒトに感染し、ほんの少量の菌がヒトの肺胞腔に入ることで感染が成立する。肺における自然免疫を担う細胞として、肺胞マクロファージ（肺胞M ϕ ）、樹状細胞（DC）、好中球、NK細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、NKT細胞、肺胞上皮細胞などがある。特に、肺胞M ϕ は、肺胞洗浄液中の細胞の90~95%を占め肺の自然免疫応答の中心的役割を果たしている。しかし、肺胞M ϕ は結核菌の殺菌を十分コントロールできないため、感染初期には菌増殖を認める。その後結核菌に対する防御免疫の中心である適応免疫応答が誘導され、菌の増殖は抑制され発病をまぬかれるが、一部の感染者（5~10%）ではそれが十分に誘導されず結核を発症する。結核の防御免疫は、生体から結核菌を完全に除去できず、単に菌の増殖をコントロールし、いわゆる潜伏感染の状態を維持する免疫であるため、宿主の免疫機能が減弱すると、内在菌の再燃や新たな再感染により結核を発症する。一方、明らかに結核菌に感染した可能性が高いのに結核の適応免疫応答〔ツベルクリン皮膚反応や末梢血を用いたIGRA（Interferon-Gamma Release Assay）〕

を全く認めないヒト達がいる。これらのヒトでは、肺局所における自然免疫応答により菌の排除を行ったか、肺局所に限定した適応免疫応答の発現により、感染が抑制された可能性が高い。感染初期の結核菌に対する肺の自然免疫応答の状況は、感染の予後を決定する重要な因子であり、実際、ヒトの結核感受性や病態に関連した遺伝子は、自然免疫応答に関連したものが多く報告されている。

近年の多くの研究成果から、結核菌認識レセプターの種類の違いによる機能の違い、M ϕ の抗結核菌活性の活性化機構のヒトとマウスの違い、M ϕ の多様性と抗結核菌活性の関係、IL-10によるヒトM ϕ の抗結核菌活性の活性化、結核の免疫応答に関与する新たなT細胞としてのTh17細胞やTh22細胞とそれらが産生するIL-17やIL-22の作用、制御性T細胞（Treg細胞）の存在、そしてTNF阻害薬を用いたりウマチなどの炎症性疾患患者の治療からヒトの結核防御免疫へのTNFの新たな作用などが明らかになってきた。本稿では、これらヒトの結核の免疫に関する新たな知見について概説する。

結核菌認識レセプターの種類と機能の違い

宿主細胞, 特に自然免疫応答を担当するM ϕ , DC, 好中球, 上皮細胞は, 結核菌およびその菌体成分に発現するPAMPs (pathogen-associated molecular patterns) と呼ばれる構造を認識する種々のPRRs (pathogen recognition receptors) を発現する (Table)。M ϕ やDCのこれらPRRsによる結核菌PAMPsの認識は, TLRs (Toll-like receptors) やNOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 2) に代表されるように, 結核菌の殺菌や増殖抑制作用のほか, 炎症性サイトカイン (TNF, IL-1, IL-12, IL-18, IL-23など), ケモカイン, インターフェロン (IFN), 抗菌ペプチド等を産生放出し, 好中球, NK細胞, DC, 単球, T細胞の炎症局所へのリクルートメントを誘導するとともに, 共刺激分子やMHCクラスI/II抗原の発現を増強して適応免疫応答の始動とチューニングを誘導する。

TLR2はTLR1やTLR6とヘテロダイマーを形成し, 結核菌の19-kDa lipoprotein, phospho-*myo*-inositol-capped lipoarabinomannan (PILAM), non-capped lipoarabinomannan (AraLAM), phosphatidyl-*myo*-inositol mannosides (PIM₁, PIM₂, PIM₆) やESAT-6などを認識する。TLR9は結核菌のDNAを, TLR4は結核菌の熱ショック蛋白65を認識する。しかし, 持続的TLR2の刺激は, MHCクラスII抗原の発現や抗原提示機能を抑制し, またTLR9刺激によるType I IFN産生とクロスプレゼンテーションを抑制するため¹⁾, むしろ結核防御免疫の発現を抑制する。ESAT-6のTLR2への結合も抑制シグナルとなる。

NOD2は, 結核菌のムラミルジペプチドを認識するが, NOD2の結核菌による刺激は, 生菌のみで刺激され加熱死菌では刺激されない²⁾。これは, 生菌はspecialized-secretion system ESX-1により食胞膜に障害を与え, 菌体成分の細胞質への移行が誘導されるため, 細胞質にある

NOD2を刺激できる³⁾。NOD2の刺激はNLRP3インフラマゾームを活性化しカスパーゼ1の活性化を刺激するため, TLRsからの刺激と異なりproIL-1 β やproIL-18のプロセッシングが起こり, IL-1 β やIL-18が産生分泌される。

Mannose receptor (MR) は, mannose-capped lipoarabinomannan (Man-LAM) やlipomannans (LMs)などを認識する。M ϕ による結核菌取り込みの主要なレセプターであるが, 取り込まれた菌は殺菌されない。また, MRの刺激は炎症性サイトカイン産生を誘導しない。しかし, 結核菌やMan-LAMによるヒトM ϕ のMRの刺激は, 転写因子peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- γ)の発現上昇とIL-8産生, cyclooxygenase 2の発現を誘導する⁴⁾。このIL-8産生は, NF- κ Bの活性化には依存せず, P38MAPKの活性化とcytosolic phospholipase A₂の活性化を介したPPAR- γ リガンド産生に依存する。PPAR- γ 欠損ヒトM ϕ は, TNF産生が増加し, 結核菌の増殖は抑制される⁴⁾。このように, MRはPPAR- γ を介してM ϕ の抗結核菌活性や炎症作用を制御している。PPAR- γ は, 肺胞M ϕ の抗炎症作用を担う中心的分子であり, 肺胞M ϕ では, 常に核内に発現している⁵⁾。

DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin) は, MR同様Man-LAMやLMsなどマンノース含有グリカンを認識するほか, *Helicobacter pylori*などに発現するフコース含有グリカンも認識する。ヒト単球由来DCに発現しており, DCによる結核菌取り込みの主要なレセプターであるが, 殺菌や炎症性サイトカイン産生は誘導しない。Man-LAMによるDC-SIGNの刺激は, LPS刺激によるIL-10, IL-12p35, IL-12p40, IL-6の発現を増強するが, フコース含有グリカンによるDC-SIGNの刺激は, IL-10の発現のみを増強し, 他のサイトカインの発現は抑制するなど免疫応答や炎症の抑制に働く。これは, リガンドの違いによるDC-SIGNのシグナロゾーム複合体のリクルートメントとRaf-1の活性化の誘導能の違いによる⁶⁾。結核患者の肺胞M ϕ ではDC-SIGNの発現が増加しており, このDC-SIGN陽性の肺胞M ϕ は, 単球由来DCと異なり結核菌刺激により, IL-10を産生しない⁷⁾。肺胞M ϕ へのDC-SIGNの発現は, 結核患者に特徴的であり, サルコイドーシスや喘息などの患者の肺胞M ϕ では発現を認めない。クローン病患者の腸粘膜固有層にはDC-SIGNを発現する特殊なM ϕ が存在し, 腸内細菌刺激により過剰なIL-23を産生し, 腸管Th1細胞の活性化とIFN- γ 産生を誘導する⁸⁾。また, IFN- γ 存在下に分化誘導したM ϕ はIL-23高産生炎症性M ϕ となり, T細胞のIFN- γ 産生を亢進させる。すなわち, クローン病患者腸管粘膜局所では, この特殊なM ϕ を中心としたIL-23/IFN- γ axisによるTh1型炎症性免疫反応の過剰な活性化と慢性化が病態の発現に重要な役割

Table Receptors involved in *Mycobacterium tuberculosis* uptake and signaling

• Toll-like receptors (TLR2, TLR4, TLR9)
• NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 2)
• C-type lectins (MR, DC-SIGN, Mincle, Dectin-1)
• Complement receptors (CR1, CR3, CR4)
• Type 1 scavenger receptor-A
• Fc receptors
• CD14

TLR, Toll-like receptor; NOD-2, nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 2; MR, mannose receptor; DC-SIGN, dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin; Mincle, macrophage-inducible C-type lectin; Dectin-1, dendritic cell-associated C-type lectin-1; CR, complement receptor

を果たしていることが示唆された⁸⁾。このIL-23高産生性腸管M ϕ は、ナイーブT細胞のTh1細胞やTh17細胞への分化誘導能も保有する興味深い細胞である⁹⁾。一方、ハンセン病患者のtuberculoid formの皮膚局所ではDC-SIGN陽性M ϕ とCD1b陽性未熟DCの2種類の細胞を認めるが、lepromatous leprosyの局所ではDC-SIGN陽性M ϕ のみ多数認め、CD1b陽性未熟DCを認めないことから、ハンセン病のTh1防御免疫応答には、DC-SIGN陽性M ϕ よりCD1b陽性未熟DCが重要なことが示唆された¹⁰⁾。結核におけるDC-SIGN陽性肺胞M ϕ の結核の防御免疫応答の発現や病態への関与、また、ハンセン病で示唆されたCD1b陽性未熟DCの結核防御免疫における役割など今後の解明が待たれる。

Dectin-1は、真菌の β -glucanを認識し、真菌の防御免疫に重要なTh17細胞の分化誘導に重要な因子であるIL-23産生を刺激する。Dectin-1の刺激は、MRやDC-SIGNの刺激により抑制される。結核菌刺激ヒト単球由来DCからのTNF, IL-6, IL-1 β そしてIL-23産生は、dectin-1に依存することが示唆された¹¹⁾。しかし、結核菌刺激ヒト単球由来DCからのIL-23産生は、TLR2とNOD2を介することも示唆されている¹²⁾。これらの結果の違いが何によるのか、さらなる検討が必要であろう。

このように、結核菌やその菌体成分による多様なPRRsの刺激は、異なるシグナル伝達系を活性化し、異なるサイトカイン産生パターンを誘導するだけでなく、同じレセプターでもリガンドの違いにより異なるシグナル伝達系が活性化され、異なる作用を示す。また、レセプター間のクロストークにより、サイトカイン産生パターンが増強したり抑制されたり、大きく修飾される。さらに、これらPRRsの発現は、細胞の種類はもちろん、同じ細胞でも分化段階や活性化の状況において、大きく異なることが示唆された。

ヒトM ϕ とマウスM ϕ の抗結核菌活性 活性化機構の違い

肺へ感染した結核菌は、まず肺胞M ϕ に貪食される。しかし、肺胞M ϕ を代表とするM ϕ は、結核菌の殺菌、増殖を十分コントロールできないため、菌増殖の場となる。結核菌はH₂O₂の直接のスキャベンジャーであるカタラーゼ活性が強いため、貪食によりM ϕ が産生する初期の活性酸素による殺菌に抵抗性を示す。特に、われわれが既に報告したように、肺胞M ϕ は菌貪食による活性酸素産生能は弱く、また、肺という特殊な環境、すなわち常に空気と接し酸素ストレスを受けやすい環境にアダプテーションするため、カタラーゼを常時多量に発現するとともに、菌の貪食や活性酸素のシグナルによりさらにカタラーゼ遺伝子の発現と蛋白合成が増強されるとい

う、他の細胞や他のM ϕ には見られないユニークな特徴をもつ¹³⁾。さらに、結核菌のMan-LAMは、細胞内Ca²⁺濃度上昇を阻害するため、ファゴリソソーム形成やファゴソームの酸性化に必要なV-ATPaseのリクルートメントが抑制され、結核菌はリソソーム酵素による殺菌から逃れ、むしろM ϕ を主な生存、増殖の場所とする。そのため、M ϕ による結核菌の殺菌には、M ϕ の活性化が必要となる。

IFN- γ で活性化したマウスM ϕ は、NO合成酵素2(NOS2)遺伝子発現が誘導され、L-アルギニンからNOを産生し結核菌を殺菌する。またこのIFN- γ 活性化M ϕ は、オートファジーの誘導やインドールアミン2, 3-デオキシゲナーゼ産生などNO非依存性の結核菌殺菌機構も誘導する。しかし、IFN- γ によるM ϕ 活性化は、ヒトとマウスで一致せず、IFN- γ で活性化したヒトM ϕ はライシマニアを殺せても、結核菌は殺菌できず、NOもほとんど産生しない。これは、ヒトのNOS2遺伝子のプロモータ領域の反応性が低いことやヒトM ϕ はNO産生の補助因子であるテトラビオプテリンの産生が少ないことなどが原因とされる。一方、ヒトとマウスいずれのM ϕ も、結核菌の19-kDa lipoproteinなどによるTLR2/1の刺激により結核菌殺菌機構が活性化される。しかし、両者による殺菌機構は異なり、マウスM ϕ はNO依存性の殺菌であるが、Fig. 1に示すように、ヒトM ϕ は1 α -水酸化酵素(Cyp27b1)の分泌とVD₃レセプター(VD3R)の発現を介した活性型ビタミンD₃の刺激による抗菌ペプチドカテリシジン(Cathelicidin)産生により殺菌する¹⁴⁾。TLR2/1刺激によるヒトM ϕ のCyp27b1やVD3Rの発現誘導は、IL-15の産生とそのレセプターを介したシグナルを介するため、TLR2/1の刺激の代わりに外からIL-15

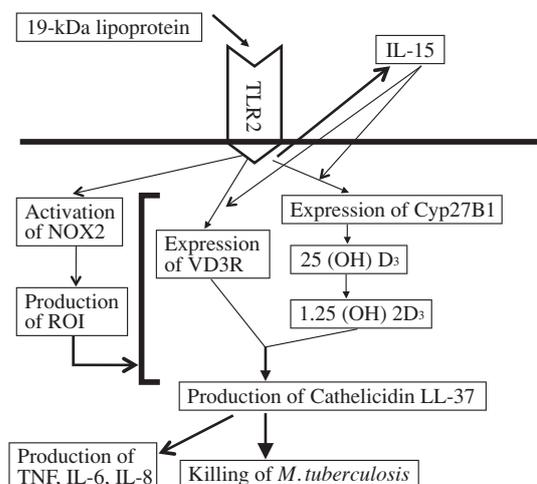


Fig. 1 Activation of anti-*M. tuberculosis* activity in human macrophages via TLR2 stimulation

でM ϕ を刺激することでもカテリシジン産生が誘導され結核菌を殺菌する¹⁵⁾。TLR2の刺激はNOX2 (NADPH oxidase 2)を活性化し、活性酸素産生が誘導されるが、カテリシジンおよび炎症性サイトカイン産生は、この活性酸素に依存する¹⁶⁾。カテリシジンは、N末側にcathelinドメインをC末側に抗菌活性をもつLL-37を保有し、プロテアーゼ3により切断されLL-37を遊離する。*In vitro*実験系で、培養にヒト血清でなくFBSを用いた場合、FBS中には活性型VD₃の前駆体25(OH)D₃が十分量存在しないためカテリシジンが産生されず、結核菌の殺菌を認めない¹⁴⁾。LL-37はデフェンシン同様多機能分子であり、抗菌活性のほか多彩な作用を有し、炎症、獲得免疫応答の誘導、組織の修復などに関与する。

M ϕ の多様性と結核菌殺菌活性

M ϕ は生体の恒常性の維持に基本的かつ重要な役割を担う細胞であるため、生体のあらゆる場所に存在する。しかし、異なる組織に存在するM ϕ は形態、細胞表面抗原、機能を異にする。組織M ϕ の多様性の主な原因は、単球が移行した先の組織の定常時の微少環境下におけるM ϕ 分化因子の違いにより生じ、macrophage-colony-stimulating factor (M-CSF)やgranulocyte-macrophage (GM)-CSFなどのコロニー刺激因子(CSF)が分化因子として重要な役割を果たしている¹⁷⁾。また、その組織の微少環境下における感染、炎症、免疫応答の結果産生される種々のサイトカインやケモカイン、微生物由来産物などの刺激がCSFによるM ϕ 分化に影響するため、同一組織内においても、M ϕ の多様性が生じる。実際、われわれが既に報告したように、ヒト単球をGM-CSFやM-CSFのみで培養すると形質の異なる2種類のM ϕ への分化を認めるが、ここにIL-4を加えるとDCや破骨細胞様多核巨細胞が形成され、また、IL-10を加えるとM-CSFによるM ϕ 分化を増強するが、GM-CSFによるM ϕ 分化を抑制する^{18)~21)}。M-CSFで単球から誘導したM ϕ (M-M ϕ)の形質はヒトの腹腔M ϕ や炎症局所に浸潤してきたM ϕ に似ている。また、GM-CSFで誘導したM ϕ (GM-M ϕ)の形質はヒト肺胞M ϕ に類似することから、GM-M ϕ はヒト肺胞M ϕ のモデルとなる^{17)22)~26)}。

これらの単球由来M ϕ に結核菌(H37Rv)を感染すると、M-M ϕ では殺菌を、肺胞M ϕ に形質が似たGM-M ϕ では菌の増殖を認める²⁶⁾。M-M ϕ による殺菌にはNOは関係せず、殺菌はFBS培養下で起きていることより、活性化VD₃を介したカテリシジン産生系によるものでない。実際、この系ではカテリシジン遺伝子の発現を認めない(櫻田未発表)。結核菌殺菌活性を示したM-M ϕ では、結核菌感染によりNRAMP1(SLC11A1)の発現増強とMAPキナーゼの活性化が起こる。NRAMP1は、菌

の増殖に関与する鉄イオンなど2価イオンのトランスポートに関連し、ヒトNRAMP1は、プロモーター部分に多型が存在し、NRAMP1の発現が低いallele 2は、ヒトの結核やハンセン病に対する感受性と関連する。また、MAPキナーゼの活性化とM ϕ の結核菌殺菌活性の関連も多数報告されている。それゆえ、M-M ϕ の結核菌殺菌活性には、NRAMP1発現増強とMAPキナーゼの活性化が重要な役割を果たしていることが示唆される。

IL-10によるヒトM ϕ の抗結核菌活性の活性化

IFN- γ はヒトM ϕ の結核菌殺菌機構を活性化できないという今までの報告同様、われわれの実験でもIFN- γ 処理GM-M ϕ は抗結核菌活性を認めない。しかし、IL-10処理によりGM-M ϕ は抗結核菌活性を示した。またIL-10処理GM-M ϕ は、NRAMP1の発現増強とMAPキナーゼの活性化がM-M ϕ 同様誘導された。一般的にIL-10は、IFN- γ やLPSによるM ϕ の活性化やサイトカイン産生、MHCクラスII分子やCD80、CD86などの共刺激分子の発現を抑制することから、抑制性サイトカインとして知られている。しかし、IL-10はM-CSFによるM ϕ 分化を増強したり(Fc γ レセプターやc-fmsの発現、活性酸素産生、IL-6産生などを増強)²⁰⁾、NK細胞の細胞傷害活性を増強するなど²⁷⁾、自然免疫応答の増強に重要な役割を果たしている。また、IL-10は、ヒトの樹状細胞の抗結核菌活性を刺激することも報告されている²⁸⁾。既に述べたように、肺胞M ϕ とGM-M ϕ は類似していることから、ヒト肺胞M ϕ の抗結核菌活性の活性化もIL-10で活性化されることが推測される。われわれの研究から、IL-10がヒトM ϕ の結核菌殺菌活性の活性化にとり重要な活性化因子であることが明らかになったが、後述するようにIL-10ファミリーに属するIL-22もヒトM ϕ の抗結核菌活性を活性化する²⁹⁾(Fig. 2)。

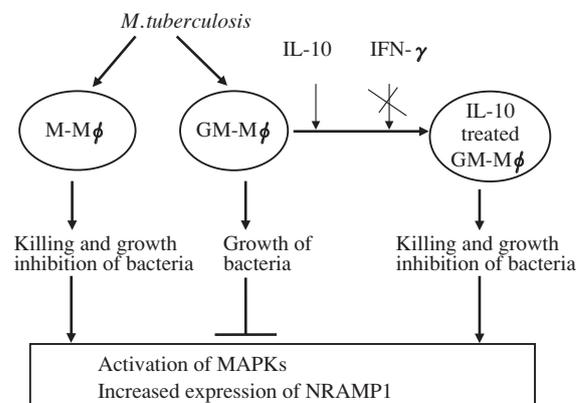


Fig. 2 Anti-*M. tuberculosis* activity of human monocyte-derived macrophages

ヒト結核の防御免疫におけるエフェクターT細胞の多様性

CD4やMHCクラスII抗原を欠如するマウスでは結核感受性が著しく増大すること、免疫マウスのCD4⁺T細胞を非免疫マウスに養子移入することで結核防御免疫を誘導できること、AIDS患者におけるCD4⁺T細胞の減少に一致して、結核の初感染、再発が起こること、またIFN- γ が重要なことより、CD4⁺Th1細胞 [MHCクラスII分子拘束性に結核菌の抗原ペプチドを認識] が結核防御免疫の中心細胞であることが古くより示唆されてきた。その後、CD8⁺T細胞 [MHCクラスI分子拘束性に結核菌の抗原ペプチドを認識]、CD1分子拘束性T細胞 [CD1分子拘束性に結核菌の脂質あるいは糖脂質を認識するCD8⁺T細胞およびCD4⁻CD8⁻T (DNT) 細胞]、V γ 9V δ 2 T細胞 [MHCやCD1に非拘束性に結核菌由来のリン酸塩を含む非ペプチド抗原を認識する] など、多彩なT細胞がヒトの結核防御免疫のエフェクター細胞として機能することが明らかにされた (Fig. 3)。CD4⁺Th1細胞、CD8⁺T細胞、V γ 9V δ 2 T細胞は、IFN- γ を産生するとともに、Fasリガンド (FasL)、グランザイム、グラニュリシン、パーフォリンを産生し、結核菌を貪食した単球やM ϕ を殺傷するとともに、グラニュリシンにより結核菌を殺菌する³⁰⁾³¹⁾。DNT細胞は、IFN- γ を産生し細胞傷害活性を有するが、グラニュリシンを産生しないため結核菌を殺菌できない。Th2細胞は、IL-4、IL-13、IL-10などを産生し、Th1細胞の増殖およびIFN- γ 産生を抑制するとともに、IFN- γ によるM ϕ の活性化、MHCクラスII抗原の発

現等を抑制する。

最近、Th17細胞、Th22細胞、制御性T細胞 (Treg細胞) などの新たなタイプのCD4⁺T細胞サブセットの結核防御免疫応答への関与がマウスとヒトで明らかになってきた^{32)~35)} (Fig. 3)。Th17細胞の分化は、ヒトではIL-1 β とIL-23、そしてTGF- β により、マウスでは、TGF- β とIL-6で誘導されIL-23がその維持と増殖を促進する³⁶⁾。Th17細胞は、転写因子ROR γ t (retinoic acid-related orphan receptor- γ T), STAT3, IL-23Rの発現を特徴とし、IL-17、IL-17F、IL-21、IL-22を産生する。マウス肺のIL-17産生CD4⁺T細胞は、IFN- γ 産生CD4⁺T細胞をリクルートするケモカインを産生し、抗結核菌防御免疫を増強する³²⁾。IL-17は、 $\gamma\delta$ T細胞、NKT細胞などからも産生され、結核菌感染によりマウス肺の $\gamma\delta$ T細胞が産生するIL-17は、肉芽腫形成や菌のコントロールに関与している³⁷⁾。Th22細胞は、大量のIL-22を選択的に産生するCD4⁺T細胞として乾癬患者などの皮膚炎症組織で発見された³⁸⁾。Th22細胞はBNC-2とFOXO4を発現し、刺激により線維芽細胞増殖因子の発現が増強する特徴をもつことから、組織リモデリングや組織修復への関与が示唆されている。Th22細胞から産生されるIL-22は、IL-10サイトカインファミリーの一員であり、NK細胞やCD8⁺T細胞からも産生される。IL-22は、IL-17同様上皮細胞からの炎症性サイトカインの産生や抗菌ペプチド産生を刺激するとともに、Fig. 4に示すようにヒトM ϕ を活性化し、結核菌の増殖を抑制する²⁹⁾。結核患者の血液中や感染局所にTreg細胞の存在が報告されている。マウスでは、Treg細胞除去により肺での結核菌の増殖抑制を認めるが、ヒト

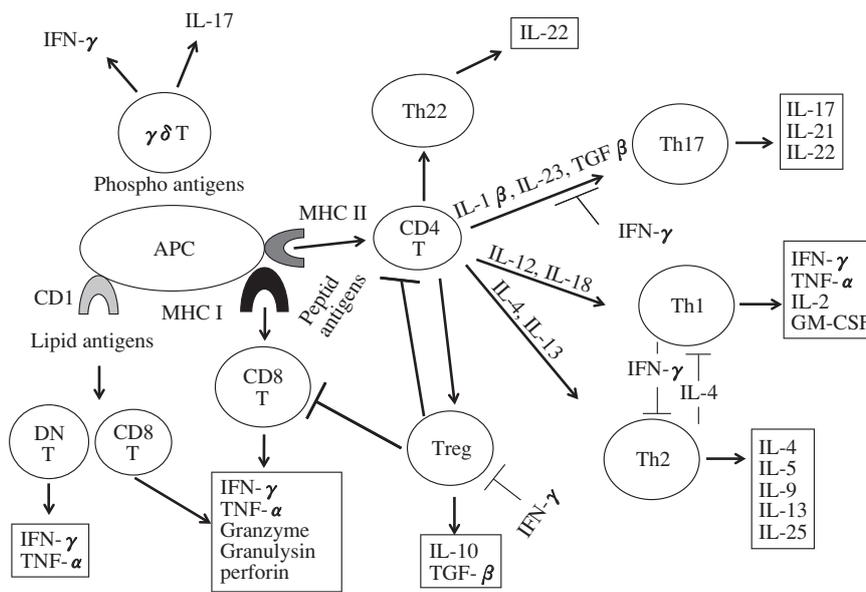


Fig. 3 Adaptive Immunity to *M.tuberculosis*

の結核防御免疫へのTreg細胞の役割は、まだ十分解析されていない。Treg細胞による結核免疫応答の抑制は、一方では、過剰な炎症反応を抑制し、感染による組織傷害を減じるであろう。Treg細胞による各種エフェクターT細胞の抑制と炎症抑制とのバランスがどのように結核防御免疫に影響するか今後の解析が待たれる。

IL-17, 好中球と結核防御免疫

IL-17は、気道および肺胞上皮細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞などに作用し、炎症性サイトカイン、ケモカイン、G-CSF, GM-CSF, マトリックスメタロプロテアーゼ、抗菌ペプチド等の産生を誘導する³⁹⁾(Fig. 4)。IL-17の刺激により産生されたケモカインは、好中球や単球のリクルートメントを誘導し、G-CSFは好中球の拡大を誘導する。また、活性化好中球とTh17は、お互いの細胞をリクルートするケモカインを産生し、両細胞の局所への浸潤と集積をさらに促進する⁴⁰⁾。これらの抗菌ペプチド産生や好中球への作用がIL-17の結核防御免疫機構の一部を担っている。

ヒトの好中球は未刺激でも結核菌殺菌活性を有し、その活性はTNFにより増強されることが古くより知られていたが、結核免疫における好中球の役割はこれまであまり重視されてこなかった。しかし、好中球が結核菌特異的適応免疫応答の始動を促進、増強することや、結核菌感染Mφは、アポトーシスした好中球や好中球由来顆粒を貪食することで、好中球由来抗菌ペプチドやミエロパーオキシダーゼなどにより、結核菌を殺菌することな

どが知られ⁴¹⁾⁴²⁾、近年その重要性が再認識され始めた。ヒトの全血液細胞は結核菌殺菌活性を示し、その活性は主に好中球に依存し、好中球顆粒内に多量に保有されているデフェンシン (human neutrophil peptides (HNPs) 1-3)、カテリシジンLL-37やリポカリン2 (lipocalin 2) などが殺菌や菌の増殖抑制に働くこと、結核菌感染感受性と血中好中球数とが逆相関すること、結核菌感染感受性が高いとされるアフリカの黒人は血中の好中球数、HNP1-3やリポカリン2の血中濃度が白人に比べ低いことなどが示された⁴³⁾。IL-17を介した好中球の結核菌感染局所への浸潤や活性化は、このように結核菌の殺菌、IFN- γ 産生Th1免疫応答の始動、肉芽腫形成に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、過度のTh17細胞の活性化とIL-17産生による過剰な好中球の感染局所への浸潤と集積は、結核菌のコントロールによる防御よりむしろ組織破壊、空洞形成などを引き起こし、結核の病態悪化の原因となるであろう。実際、結核患者の遺伝子発現の検討から、インターフェロンに依存した好中球遺伝子発現シグネチャーが、活動性結核患者に特徴的なものであることが報告された⁴⁴⁾。また、結核患者の肺胞洗浄液中や空洞には大量の好中球浸潤集積を認めることが報告されている⁴⁵⁾。

IFN- γ 産生減少は、結核の重症度マーカーであるが、IL-17は、抗原刺激による結核患者T細胞からのIFN- γ 産生を抑制しTh1免疫応答を抑制する⁴⁶⁾。一方、IFN- γ は、Th17細胞からのIL-17産生を抑制し好中球のリクルートメントを抑制する。結核防御免疫にとっては、Th1応答

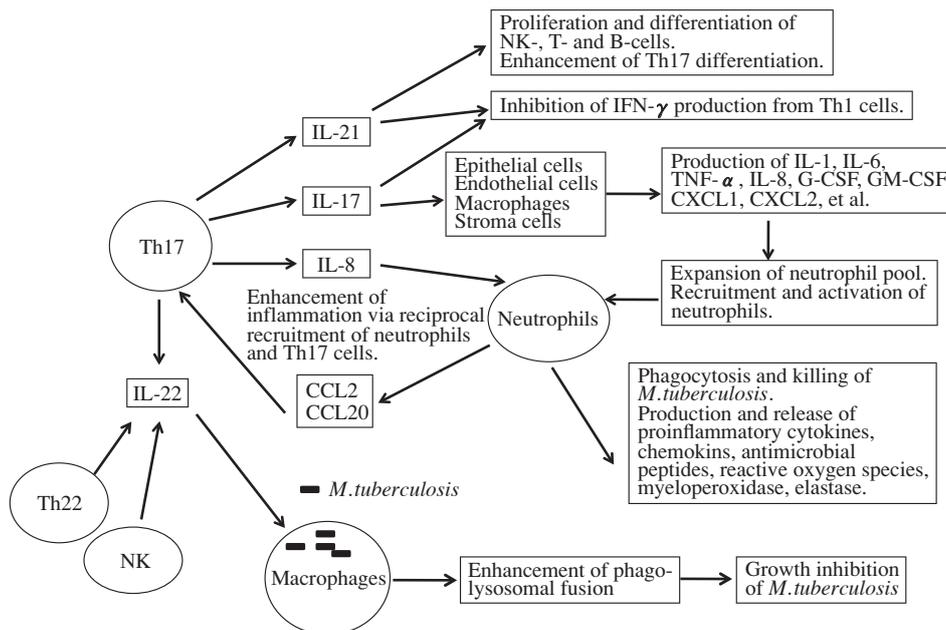


Fig. 4 The role of Th17/IL-17 and Th2/IL-22 in the innate immunity against *M. tuberculosis*

とTh17応答のバランスが重要となる。Th1免疫応答の誘導には、IL-12が重要な役割を果たすが、Th17細胞の分化とIL-17産生にはIL-23が必須の因子である。ヒトDC同様、ヒトの肺胞M ϕ は結核菌刺激により主にIL-23を産生するが、単球は、結核菌で刺激してもIL-23を産生しない⁴⁷⁾。すなわち、肺という組織への結核菌感染は、Th17免疫応答がTh1免疫応答よりむしろ優位に誘導されやすい状態にあると考えられる。しかし、既上記したように、クローン病患者腸管粘膜局所のIL-23産生M ϕ は、IL-23/IFN- γ axisによるTh1型炎症性免疫反応の過剰な活性化と慢性化に関与すること、またナイーブT細胞のTh1細胞やTh17細胞への分化誘導能も保有することから⁸⁾⁹⁾、結核における肺胞M ϕ からのIL-23産生は、Th1免疫応答の誘導に関与することも示唆される。

結核の防御免疫におけるTNFの新たな作用機構

結核菌感染マウスの実験から明らかのように、TNFは結核菌の初感染および潜伏感染の両者における防御免疫に重要な役割を果たす⁴⁸⁾。特に、結核菌を封じ込め、その増殖と伝搬をコントロールする肉芽腫形成とその維持に必須の因子である。これは、TNFが肉芽腫形成に必要な感染局所への単球、M ϕ 、エフェクターT細胞のリクルートメントを、炎症性サイトカインやケモカインの産生、接着分子の発現を通して誘導するためである。このほかTNFは、樹状細胞の成熟や結核菌感染M ϕ のアポトーシスを誘導する。M ϕ のアポトーシスは、結核菌の殺菌を誘導し、アポトーシスしたM ϕ の樹状細胞による取り込みはクロスプレゼンテーションによる適応免疫応答を誘導する。さらにTNFは、IFN- γ と共同してM ϕ の結核菌殺菌活性の活性化も誘導する。これらのTNFの作用も、結核の防御免疫の発現に重要な役割を果たしている⁴⁸⁾。

ヒトにおいても、慢性関節リウマチやクローン病等の炎症性疾患の治療のためInfliximab, adalimumab, etanerceptなどのTNF阻害薬を投与された患者では、結核の再発を多く認めることから、TNFは結核菌の潜伏感染を維持するのに重要な因子であることが明らかになった。Brunsらは、結核菌を感染した単球を傷害し、結核菌の殺菌を誘導する末梢血中の主たるエフェクター細胞は、グラニューリシンを発現する結核菌特異的CD8⁺CCR7⁻CD45RA⁺ effector memory T細胞 (CD8⁺TEMRA細胞)であることを明らかにし、TNF阻害薬投与はこの細胞の減少と結核菌殺菌活性の低下を認めることから、このCD8⁺TEMRA細胞が結核の潜伏感染の維持に重要な役割を果たしていることを示唆した⁴⁹⁾。このCD8⁺TEMRA細胞は、膜型TNFを発現しており、抗TNF抗体を結合し補体依存性に殺される。マウスと異なりヒトのCD8⁺T細胞は、直接結核菌を

殺菌するグラニューリシンを発現するため、結核防御免疫におけるヒトCD8⁺T細胞の重要性はマウスのCD8⁺T細胞に比べはるかに高いと考えられる。

このほかTNF阻害薬は、結核菌感染ヒトM ϕ のファゴリソソーム融合の阻害⁵⁰⁾、結核菌刺激T細胞からのIFN- γ やTNFの産生抑制⁵¹⁾、結核菌抗原刺激CD4⁺T細胞の増殖と膜型TNFの発現の抑制⁵²⁾、結核菌抗原刺激V γ 9V δ 2 T細胞からのIFN- γ 産生の抑制⁵³⁾などを誘導する。また、TNFアンタゴニスト投与は、CD62L発現のTregやTreg活性の増強を誘導すること⁵⁴⁾⁵⁵⁾より、結核菌特異的Treg細胞の増加による結核防御免疫の抑制が起き再発する可能性も示唆される。しかし、TNFの過剰産生は組織破壊やカケクチアの原因になり、結核防御免疫応答の発現のためにはその産生の適切なバランスが重要である。

おわりに

近年のマウスを用いた結核免疫の研究は、Th17細胞やTreg細胞などの結核免疫への関与を明らかにするなど、多大な進歩をもたらしている。またそれらマウスのデータを基に、ヒトの結核の免疫もかなり明らかになってきた。本稿では、ヒトの結核免疫に関しての最近の知見のいくつかを解説した。これらのヒトの結核免疫に関する新たな発見は、必ずしもマウスとヒトの結核免疫機構が同じでないことをあらためて示唆するものが多い。それゆえ、ヒトの結核免疫機構の直接の解析、解明は、より有効な新規ワクチン開発を目指すうえでも、最も重要な課題であろう。とくに、肺での結核防御免疫の解析は、重要である。結核患者および対照となる健常人の材料を用いての解析は、必ずしもたやすいことではない。しかし、今後、ヒトの結核免疫機構解明の研究がより進展することを期待したい。

文 献

- 1) Simmons DP, Canaday DH, Liu Y, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* and TLR2 Agonists Inhibit Induction of Type I IFN and Class I MHC Antigen Cross Processing by TLR9. *J Immunol.* 2010 ; 185 : 2405–2415.
- 2) Yang Y, Yin C, Pandey A, et al.: NOD2 pathway activation by MDP or *Mycobacterium tuberculosis* infection involves the stable polyubiquitination of Rip2. *J Biol Chem.* 2007 ; 282 : 36223–36229.
- 3) Smith J, Manoranjan J, Pan M, et al.: Evidence for pore formation in host cell membranes by ESX-1-secreted ESAT-6 and its role in *Mycobacterium marinum* escape from the vacuole. *Infect Immun.* 2008 ; 76 : 5478–5487.
- 4) Rajaram MVS, Brooks MN, Morris JD, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* Activates Human Macrophage Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Linking Mannose Receptor Recognition to Regulation of Immune Responses. *J Immunol.*

- 2010 ; 185 : 929–942.
- 5) 赤川清子：肺胞マクロファージの分化とGM-CSF-PPAR- γ の発現と抗炎症作用. 医学のあゆみ. 2008 ; 224 : 857–860.
 - 6) Gringhuis SI, den Dunnen J, Litjens M, et al.: Carbohydrate-specific signaling through the DC-SIGN signalosome tailors immunity to *Mycobacterium tuberculosis*, HIV-1 and *Helicobacter pylori*. Nat Immunol. 2009 ; 10 : 1081–1088.
 - 7) Tailleux L, Pham-Thi N, Bergeron-Lafaurie A, et al.: DC-SIGN induction in alveolar macrophages defines privileged target host cells for mycobacteria in patients with tuberculosis. PLoS Med. 2005 ; 2 : e381.
 - 8) Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, et al.: Unique CD14-positive intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn's disease via IL-23/IFN- γ axis. J Clin Invest. 2008 ; 118 : 2269–2280.
 - 9) Kamada N, Hisamatsu T, Honda H, et al.: Human CD14⁺ macrophages in intestinal lamina propria exhibit potent antigen-presenting ability. J Immunol. 2009 ; 183 : 1724–1731.
 - 10) Krutzik SR, Tan B, Li H, et al.: TLR activation triggers the rapid differentiation of monocytes into macrophages and dendritic cells. Nat Med. 2005 ; 11 : 653–660.
 - 11) Zenaro E, Donini M, Dusi S: Induction of Th1/Th17 immune response by *Mycobacterium tuberculosis*: role of dectin-1, Mannose Receptor, and DC-SIGN. J Leukoc Bio. 2009 ; 86 : 1393–1401.
 - 12) Lyakh L, Trinchieri G, Provezza L, et al.: Regulation of interleukin-12/interleukin-23 production and the T-helper 17 response in humans. Immunol Rev. 2008 ; 226 : 112–131.
 - 13) Komuro I, Keicho N, Iwamoto I, et al.: Human alveolar macrophages and GM-CSF-induced monocyte-derived macrophages are resistant to H₂O₂ via their high basal and inducible levels of catalase activity. J Biol Chem. 2001 ; 276 : 24360–24364.
 - 14) Liu PT, Stenger S, Li H, et al.: Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. Science. 2006 ; 311 : 1770–1773.
 - 15) Krutzik SR, Hewison M, Liu PT, et al.: IL-15 links TLR2/1-induced macrophage differentiation to the vitamin D-dependent antimicrobial pathway. J Immunol. 2008 ; 181 : 7115–7120.
 - 16) Yang CS, Shin DM, Kim KH, et al.: NADPH oxidase 2 interaction with TLR2 is required for efficient innate immune responses to mycobacteria via cathelicidin expression. J Immunol. 2009 ; 182 : 3696–3705.
 - 17) Akagawa KS: Functional heterogeneity of colony-stimulating factor induced human monocyte-derived macrophages. Int J Hematol. 2002 ; 76 : 27–34.
 - 18) Akagawa KS, Takasuka N, Sakurai T: IL-4 stimulate the generation of dendritic cells and multinucleated giant cells from human monocytes. Lymphokine Cytokine Res. 1993 ; 12 : 326.
 - 19) Akagawa KS, Takasuka N, Nozaki Y, et al.: Generation of CD1 + RelB + Dendritic Cells and TRAP-positive Osteoclast-like Multi-nucleated Giant Cells from Human Monocytes. Blood. 1996 ; 88 : 4029–4039.
 - 20) Hashimoto S, Yamada M, Motoyoshi K, et al.: Enhancement of macrophage-colony-stimulating factor-induced growth and differentiation of human monocytes by interleukin-10. Blood. 1997 ; 89 : 315–321.
 - 21) Hashimoto S, Komuro I, Yamada M, et al.: IL-10 inhibits GM-CSF-dependent human monocyte survival at the early stage of the culture and inhibits the generation of macrophages. J Immunol. 2001 ; 167 : 3619–3625.
 - 22) Mochida-Nishimura K, Akagawa KS, Rich EA: Interleukin-10 Contributes Development of Macrophage Suppressor Activities by Macrophage Colony-Stimulating Factor, but not by Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor. Cell Immunol. 2001 ; 214 : 81–88.
 - 23) Komuro I, Yokota Y, Yasuda S, et al.: CSF-induced and HIV-1-mediated distinct regulation of Hck and C/EBP β represent a heterogeneous susceptibility of monocyte-derived macrophages to M-tropic HIV-1 infection. J Exp Med. 2003 ; 198 : 443–453.
 - 24) Komuro I, Yasuda T, Iwamoto A, et al.: Catalase plays a critical role in the CSF-independent survival of human macrophages via regulation of the expression of Bcl-2 family genes. J Biol Chem. 2005 ; 280 : 41137–41145.
 - 25) Komuro I, Sunazuka T, Akagawa KS, et al.: Erythromycin derivatives EM201 and EM703 inhibit HIV-1 replication in macrophages through modulation of MAPK activity to induce small isoform of C/EBP β . Proc Natl Acad Sci USA. 2008 ; 105 : 12509–12514.
 - 26) Akagawa KS, Komuro I, Kanazawa H, et al.: Functional Heterogeneity of Colony-Stimulating Factor-Induced Human Monocyte-Derived Macrophages. Respirology 2006 ; 11 : S32–36.
 - 27) Mocellin S, Pnelli MC, Wang E, et al.: The dual role of IL-10. Trends Immunol. 2003 ; 24 : 36–43.
 - 28) Förtsch D, Röllinghoff M, Stenger S: IL-10 converts human dendritic cells into macrophage-like cells with increased antibacterial activity against virulent *Mycobacterium tuberculosis*. J Immunol. 2000 ; 165 : 978–987.
 - 29) Dhiman R, Indramohan M, Barnes PF, et al.: IL-22 produced by human NK cells inhibits growth of *Mycobacterium tuberculosis* by enhancing phagolysosomal fusion. J Immunol. 2009 ; 183 : 6639–6645.
 - 30) Canaday DH, Wilkinson RJ, Li Q, et al.: CD4 (+) and CD8 (+) T cells kill intracellular *Mycobacterium tuberculosis* by a perforin and Fas/Fas ligand-independent mechanism. J Immunol. 2001 ; 167 : 2734–2742.
 - 31) Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, et al.: An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. Science. 1998 ; 282 : 121–125.
 - 32) Khader SA, Bell GK, Pearl JE, et al.: IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4⁺ T cell responses after vaccination and during *Mycobacterium tuberculosis*

- challenge. *Nat Immunol.* 2007 ; 8 : 369–377.
- 33) Terrado E, Cooper AM: IL-17 and Th17 cells in tuberculosis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010 ; 21 : 455–462.
 - 34) Scriba TJ, Kalsdorf B, Abrahams DA, et al.: Distinct, specific IL-17- and IL-22-producing CD4⁺ T cell subsets contribute to the human anti-mycobacterial immune response. *J Immunol.* 2008 ; 180 : 1962–1970.
 - 35) Qiao D, Yang BY, Li L, et al.: ESAT-6- and CFP-10-specific Th1, Th22 and Th17 cells in tuberculous pleurisy may contribute to the local immune response against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Scand J Immunol.* 2011 ; 73 : 330–337.
 - 36) Annunziato F, Cosmi L, Litta F, et al.: Type 17 T helper cells-origins, features and possible roles in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2009 ; 5 : 325–331.
 - 37) Okamoto YY, Umemura M, Yahagi A, et al.: Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung. *J Immunol.* 2010 ; 184 : 4414–4422.
 - 38) Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, et al.: Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J Clin Invest.* 2009 ; 119 : 3573–3585.
 - 39) Gaffen SL: An overview of IL-17 function and signaling. *Cytokine.* 2008 ; 43 : 402–407.
 - 40) Pelletier M, Maggi L, Micheletti A, et al.: Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells. *Blood.* 2010 ; 115 : 335–343.
 - 41) Blomgran R, Ernst JD: Lung neutrophils facilitate activation of naive antigen-specific CD4⁺ T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol.* 2011 ; 186 : 7110–7119.
 - 42) Tan BH, Meinken C, Bastian M, et al.: Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens. *J Immunol.* 2006 ; 177 : 1864–1871.
 - 43) Martineau AR, Newton SM, Wilkinson KA, et al.: Neutrophil-mediated innate immune resistance to mycobacteria. *J Clin Invest.* 2007 ; 117 : 1988–1994.
 - 44) Berry MP, Graham CM, McNab FW, et al.: An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature.* 2010 ; 466 : 973–977.
 - 45) Eum SY, Kong JH, Hong MS, et al.: Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB. *Chest.* 2010 ; 137 : 122–128.
 - 46) Pasquinelli V, Townsend JC, Jurado JO, et al.: IFN-gamma production during active tuberculosis is regulated by mechanisms that involve IL-17, SLAM, and CREB. *J Infect Dis.* 2009 ; 199 : 661–665.
 - 47) Silver RF, Walraath K, Lee H, et al.: Human alveolar macrophage gene responses to *Mycobacterium tuberculosis* strains H37Ra and H37Rv. *Am J Respir Cell Mol Bio.* 2009 ; 40 : 491–504.
 - 48) Stenger S: Immunological control of tuberculosis: role of tumour necrosis factor and more. *Ann Rheum Dis.* 2005 ; 64 : iv24–iv28.
 - 49) Bruns H, Meinken C, Schauenberg P, et al.: Anti-TNF immunotherapy reduces CD8⁺T cell-mediated antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* in humans. *J Clin Invest.* 2009 ; 119 : 1167–1177.
 - 50) Harris J, Hope JC, Keane J: Tumor necrosis factor blockers influence macrophage responses to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis.* 2008 ; 198 : 1842–1850.
 - 51) Saliu OY, Sofer C, Stein DS, et al.: Tumor-necrosis-factor blockers : differential effects on mycobacterial immunity. *J Infect Dis.* 2006 ; 194 : 486–492.
 - 52) Hamdi H, Mariette X, Godot V, et al.: Inhibition of anti-tuberculosis T-lymphocyte function with tumour necrosis factor antagonists. *Arthritis Res Ther.* 2006 ; 8 : R114.
 - 53) Giardina AR, Accardo-Palumbo A, Ciccia F, et al.: Blocking TNF *in vitro* with infliximab determines the inhibition of expansion and interferon gamma production of V γ 9/V δ 2 T lymphocytes from patients with active rheumatoid arthritis. A role in the susceptibility to tuberculosis? *Reumatismo.* 2009 ; 61 : 21–26.
 - 54) Nadkarni S, Mauri C, Ehrenstein MR: Anti-TNF- α therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF- β . *J Exp Med.* 2007 ; 204 : 33–39.
 - 55) Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al.: Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF- α therapy. *J Exp Med.* 2004 ; 200 : 277–285.

— The 86th Annual Meeting Educational Lecture —

RECENT ADVANCES IN TUBERCULOSIS IMMUNITY

Kiyoko S. AKAGAWA

Abstract Primary tuberculosis infection is acquired by the inhalation of droplets containing *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) bacilli. Only 5–10% of those individuals infected by MTB develop clinical diseases, and disease presentation itself is heterogeneous, suggesting that host factors play a large role in disease susceptibility. Protective immunity in the lung against MTB consist of the innate immunity in which alveolar macrophages play an central role, and the acquired immunity including various type of effector T cells. Recent studies show that the important roles of the receptors which recognize MTB for the development of protective immunity, the difference in the anti-MTB activity of macrophages between human and mice, the macrophage-heterogeneity that affects the anti-MTB activity, the role of IL-10 in the activation of anti-MTB activity of human macrophages, and the role of Th17/IL-17, Th22/

IL-22 and TNF in the protective immunity against human tuberculosis. In this review, these recent advances in tuberculosis immunity will be described.

Key words : Tuberculosis, Immunity, Pattern recognition receptors, Macrophages, Effector T cells, TNF

Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University and Department of Immunology, National Institute of Infectious Diseases

Correspondence to: Kiyoko S. Akagawa, Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University, 5-9-1, Shirogane, Minato-ku, Tokyo 108-8642 Japan.

(E-mail: akagawak@nih.go.jp)