

今村賞受賞記念講演

HIV と結核菌の相互作用の分子機構

¹中田 光 ⁵星野 芳彦 ²本田 芳広 ³田中 直彦
⁴蛇澤 晶 ⁵Michael Weiden

キーワードズ：ヒト免疫不全ウイルス，結核菌，転写因子，マクロファージ

はじめに

HIV 感染の比較的初期から結核菌に対する防御免疫は著しく減弱することが知られている。ツベルクリン反応が陽性に転化した HIV 感染者のうち，1 年に約 10% が活動性の結核を発病する。また，アフリカや合衆国における疫学調査から，結核菌に暴露した場合，HIV 感染者は非感染者に比べて 25～170 倍も活動性結核になりやすいことが報告されている¹。また，結核はエイズ発症の契機となり，エイズ合併結核がしばしば死にいたるような重篤な感染症を引き起こすことは周知のことである。これは，結核感染と HIV 感染が相互に作用してお互いの進行を促すためであると考えられている。

1992 年ニューヨーク大学ペルビュー病院への留学を契機に始まったこの HIV と結核の相互作用の研究は，10 年間続き，私から Michael Weiden 博士，本田博士，星野博士へと引き継がれて一応完成の域に達したと思われるので，代表して報告する。

結核が AIDS の進行に及ぼす影響

(1) 結核感染によるエイズの進行

結核に感染すると，AIDS の進行が促進されることが疫学調査から示唆されている。Whalen らは，結核を合併したことがある HIV 抗体陽性者 101 人とそれ以外の陽性者 105 人を対象とした予後の追跡調査では，両群の調査開始時の血中 CD4 数に差が見られないにもかかわらず，また，有効な抗結核療法が行われたにもかかわらず，前者は後者に比べて有意に予後が悪いと報告している²。この理由のひとつとして，前者では結核治療後に

結核以外の日和見感染の頻度がコントロール群に比べて 1.4 倍も増加することが指摘されている。

このことは，結核菌感染によりさらに免疫不全が進行することを示唆している。換言すれば，CD4⁺T 細胞が減少し，細胞性免疫が低下する結果，たとえ結核が治癒しても，他の感染症にかかりやすくなるのである。

(2) 結核炎症局所における HIV 産生の亢進

結核を合併した AIDS 患者の血中のウイルス量は合併症のない患者に比べて，有意に高くなることが報告されている。筆者らは結核炎症局所においてウイルス産生が亢進することを見出し報告した³。結核を合併した HIV-1 抗体陽性者 11 人と肺に合併症のない陽性者 10 人（血中 CD4 数を合わせたコントロール群）に気管支肺胞洗浄（BAL）を行い，回収された洗浄液中のウイルス量と変異を解析し，比較検討した結果，HIV-1 量は結核炎症部からの BAL で合併者の非炎症肺，コントロール群からの BAL に比べて著しく（10～100 倍）増加していた（Fig. 1）。

同時に血中の HIV 量を測定した合併者 5 例において炎症部の BAL 中 HIV 量は血中のそれをはるかに凌駕することから（Table），炎症部のウイルスの増加は単に血漿中からウイルスが沁みだしてきたものではなく，ウイルスの局所産生の増大の結果であることが示唆された。また，3 例の合併者を結核治療開始後に定期的に BAL を行ってそのウイルス量を調べたところ，治療が進むにつれ減少していくことが確認された。結核炎症部の BAL 中の TNF- α ，IL-6 量がコントロール群に比べて増加しており，BAL 中 HIV 量と TNF 量との間には非常に強い相関がみられる（ $r=0.996$ ， $P<0.001$ ）。これに対し

¹新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター，²仙台厚生病院内科，³北里大学呼吸器内科，⁴国立病院機構東京病院病理検査科，⁵Division of Pulmonary & Critical Care Medicine, New York University Medical Center

連絡先：中田 光：新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター，〒951-8510 新潟県新潟市旭町通1番町754
 (E-mail: knak@med.niigata-u.ac.jp)
 (Received 14 Oct. 2004)

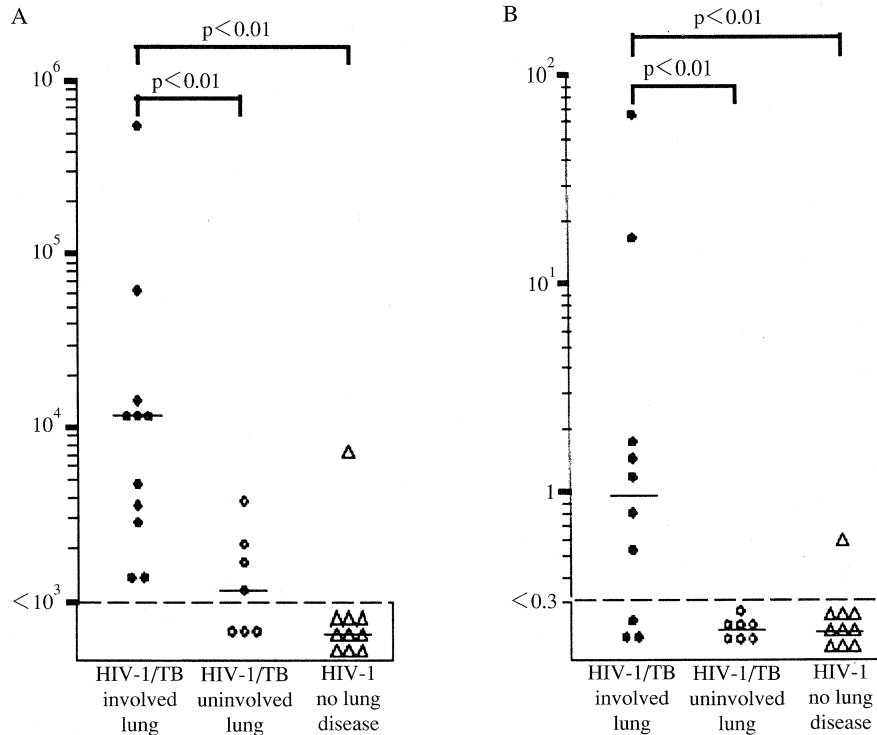


Fig. 1 HIV-1 burden in the BAL fluid.

A: There was a striking increase in viral RNA particles in BAL of TB involved segments compared with uninvolved segments or no lung disease. The median viral particles in involved segments was 10 fold higher than in uninvolved segments. B: Assay of P24 antigen revealed similar results. Viral burden showed a significant increase in the involved lung segments.

Table HIV-1 concentration in BAL and plasma (RNA particles/ml)

| Pt | CD4 ⁺ | Plasma HIV-1 | BAL HIV-1 |
|----|------------------|--------------|-----------|
| K | 100 | <10,000 | 577,000 |
| L | 84 | 25,500 | 68,300 |
| M | 100 | <10,000 | 12,000 |
| N | 20 | <10,000 | 10,200 |
| X | 330 | <10,000 | 10,200 |

It was unlikely that HIV-1 particles in the BAL fluid represented exudation from plasma. As shown in this table, in all five plasma HIV-1 burden performed at the same time as BAL. The BAL level was greater than plasma. These data suggested that increased HIV-1 in TB involved lung is due to local production of the virus.

てIL-6との間の相関は著明ではない。以上の結果から、エイズ合併結核の病巣部、すなわち結核菌による炎症が存在する部位においてはHIVの局所産生が亢進していることが示唆された。

(3) 結核菌感染とウイルス変異

結核による炎症はウイルスの変異も促進する³⁾。上記の研究でBAL中のウイルス変異を変異の起こりやすい膜蛋白のV3領域のアミノ酸配列について調べると、コ

ントロール群、および結核合併者の非炎症部からのBAL中のアミノ酸配列は血漿中のそれに比べてより均一である(つまり変異が少ない)。これに比べて結核炎症部のBALにおけるアミノ酸配列は不均一であった(Fig. 2, envelope V3領域アミノ酸配列のsimilarityのmedianは血漿中79%, 結核炎症部86%, 結核非炎症部92%, コントロール群BAL 94%: これらの数値が高いほどウイルスの変異が少なく均一である)。つまり、炎症ではウイルスの変異が促進されていると考えられる。また、この変異により強毒なウイルス株の割合が高くなることも示唆されている。また、こうした遺伝子解析から基本的にBAL中のHIVは血漿中のそれとは異なるウイルスであることが確認された。つまり、ウイルス産生と変異は局所で行われていると思われる。

炎症により、ウイルスの変異が促進されることは、*in vivo*, *in vitro*の研究から指摘されている。われわれは、上記の結核炎症部のBAL上清中のウイルスRNAの遺伝子解析より、V3領域11番目のアミノ酸が中性アミノ酸からアルギニン、リジンなどの塩基性アミノ酸に高率に変異していることをつきとめた。これに対し、非炎症部のウイルスではこの置換は見られなかった。この11番

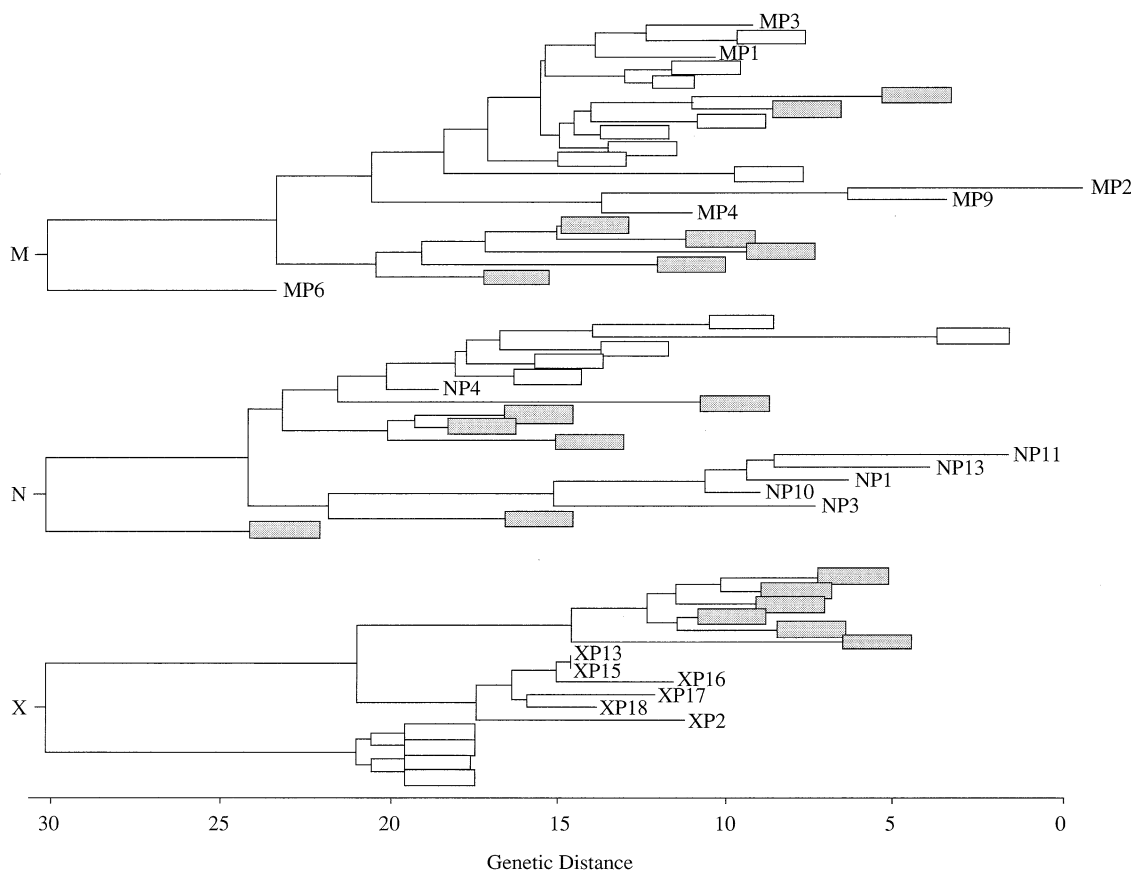


Fig. 2 The sequences from three TB/HIV patients. The sequence data were used to construct phylogenetic trees to investigate the relationship of HIV-1 obtained from different sites. The open column, closed column, and characters indicate sequences in uninvolved BAL, involved BAL, and plasma, respectively. Greater genetic heterogeneity was characteristic of virus from lung segments involved with tuberculosis compared to uninvolved segments. The horizontal axis is genetic distances. HIV/TB coinfecting patients M, N, and X showed several clusters of clones from involved segments, which segregated from plasma and uninvolved lung sequence.

目のアミノ酸が塩基性アミノ酸に変異すると非合胞体形成性のウイルスが合胞体形成性（感染T細胞を融合させるような性質）に性質を変え、より増殖速度が速くなることが知られている。

結核菌によるマクロファージの HIV 産生増強の分子機構

(1) 抗酸菌の重感染によるマクロファージからの HIV-1 産生の変化

前述したように抗酸菌感染の炎症部において HIV-1 を産生している細胞は主としてマクロファージであることが確認されている。そこで、著者らは、マクロファージの *in vitro* における HIV-1 と結核の重感染がウイルス産生に及ぼす影響を培養マクロファージを用いて検討した。

マクロファージ腫瘍細胞株である THP-1 に HIV-1 と *M. tuberculosis* H37Ra を重感染させると、菌量依存的に

ウイルスの産生亢進が起こる⁴⁾ (Fig. 3)。このことは、HIV-1 のプロモーター遺伝子 LTR の下流に chloramphenicol acetyltransferase (CAT) reporter gene 結合させたプラスミドを transfect した THP-1 細胞においても確認された。

一方、THP-1 にマクロファージの分化を誘導する作用が知られている化合物 phorbol myristate acetate (PMA) を添加し、付着性のマクロファージに分化させた後に重感染させると逆に菌量依存的に HIV-1 産生を抑制することがわかった⁵⁾。次に単球由来マクロファージに重感染させると、PMA 刺激 THP-1 と同様に菌量依存的にウイルス産生を抑制した (Fig. 4)。この傾向は感染後、4 日～10 日の間で変わりなく、また結核菌 H37Rv 株、BCG、*M. smegmatis* においても同程度に抑制されたが、H37Ra の死菌では効果が弱く、結核菌の膜成分である Lipoarabinomannan では全く効果がなかった。前述の HIV-1 LTR CAT THP-1 を PMA で刺激して分化させた場合でも、

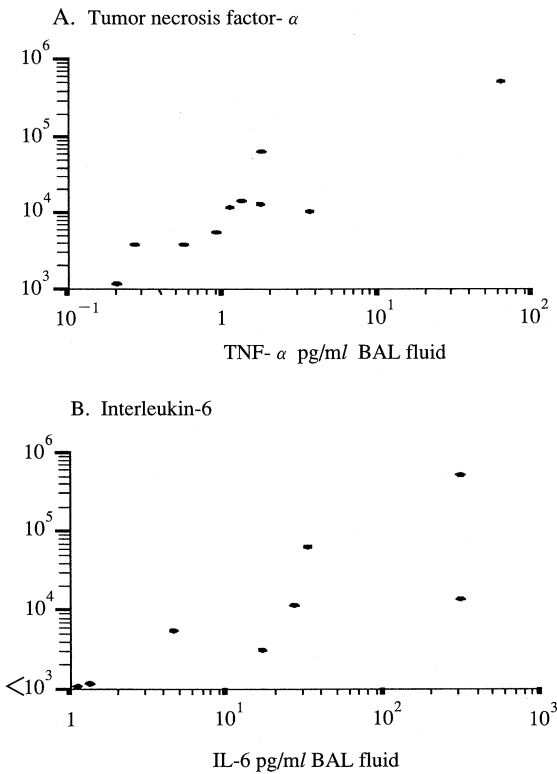


Fig. 3 HIV-1 production is augmented by TB co-infection in immature macrophage cell line, THP-1 or U937. This stimulation is mediated by a nuclear protein, NF- κ B, because the point mutations of NF- κ B binding sites abrogated this effect.

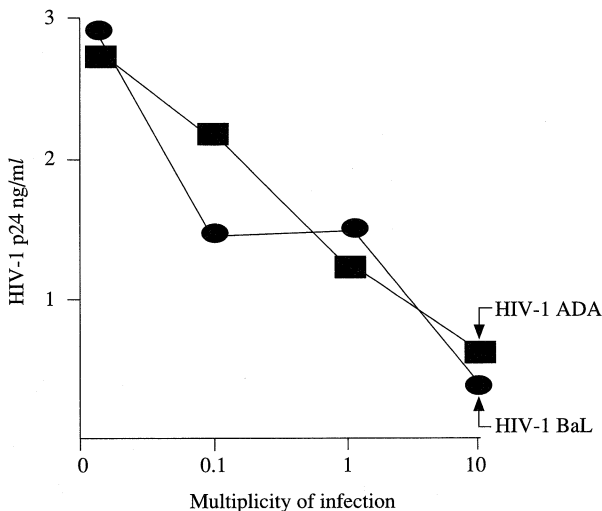


Fig. 4 Immature macrophage cell line, THP-1 cells are known to mature and adhere in the presence of phorbol myristate acetate (PMA). In contrast to non-adherent THP-1 cells, PMA stimulated THP-1 cells showed a down regulation of HIV-1 production by TB co-infection. LTR CAT activity is also suppressed by TB infection in LTR transfected THP-1, indicating that this down regulation occurs in the transcription level.

MOI1.0で33%の、MOI10では66%のCAT活性の抑制が見られた。

(2) C/EBP β (CCAAT/enhancer binding protein β) 結合部位と転写抑制の関係

HIV-1 LTRの Negative regulatory element (NRE) が転写抑制に関与していることが知られている。HIV-1 LTRには C/EBP β 結合部位が3カ所あるが、それぞれに変異を加えた HIV-1 LTR luciferase construct と wild typeの construct を transfect した THP-1 細胞を用いて PMA と結核菌による刺激実験を行った。Wild type の THP-1 では reporter の発現が24時間後に刺激前の14倍になり、その後抑制されて48時間後にピークの50%となった。一方、C/EBP β 変異の THP-1 では刺激後の活性が弱い48時間後の抑制が見られなかった⁵⁾。つまり、PMA で分化したマクロファージの重感染による HIV 産生抑制には C/EBP β が関与していることが示唆された。

(3) 単球由来マクロファージ、分化した THP-1 細胞、肺泡マクロファージに発現している 16kDa の C/EBP β isoform

C/EBP β は C/EBP family に属する転写因子であり、多くのサイトカインのプロモーター結合し炎症反応の発現に重要な役割を果たしている。Inhibitory および stimulatory form の C/EBP β は単一の mRNA より作られており、stimulatory form は 37Kd と 33Kd からなっている。ribosome translation を最初あるいは2番目の AUG から開始することによって stimulatory forms が作られ、これらは DNA binding domain, dimerization domain および transcriptional activating domain をもつ。16Kd の inhibitory form は ribosome が3番目の AUG より translation を開始することによってもたらされ、DNA binding domain と dimerization domain のみを持ち、dominant negative transcription factor として作用する⁶⁾。

C/EBP β はマクロファージに発現しており、HIV-1 LTR の亢進と抑制の両方の作用があることが知られているが、この転写因子が結核菌の刺激下でどのような働きを持つか明らかにするために、抗 C/EBP β 抗体を用いた細胞抽出液の immunoblot を行った。単球を M-CSF の存在下で培養すると、16kDa の C/EBP β isoform が発現するが、結核菌で刺激するとこの発現はさらに増強される (Fig. 5)。また、THP-1 細胞を PMA で刺激すると 16kDa の C/EBP β isoform が細胞核に発現してくるのに12日間もかかるが、この系に結核菌の刺激をさらに加えると、早くも48時間後に 16kDa の isoform が発現してくる。これに対して結核菌だけの刺激では 16kDa の isoform は発現してこない。健常者の肺泡マクロファージに発現しているのは結核菌と PMA で刺激した THP-1 の C/EBP β isoform pattern に非常によく似ており、16kDa の

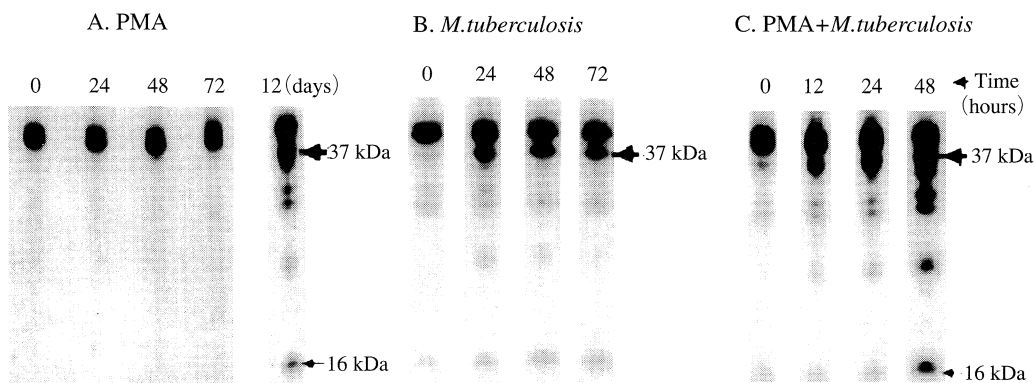


Fig. 5 C/EBP β expression in THP-1 cells. A: PMA. C/EBP β expression was unchanged over 72 hr but at 12 days both 37 kDa and 16 kDa isoforms were induced on immunoblots with polyclonal anti-C/EBP β antibody. B: *M. tuberculosis* H37Ra. *M. tuberculosis* induced only a 37 kDa C/EBP isoform over 72 hr. C: PMA and *M. tuberculosis* H37Ra. The combination of PMA and H37Ra induced both 37 kDa and a 16 kDa C/EBP β isoforms over 48 hr.

C/EBP β isoformが発現している。胸部 X 線上結核非感染肺からの気管支肺胞洗浄液細胞に発現している isoform も全く同様なパターンである。ところが、結核感染肺からの細胞ではすべての C/EBP β isoform の発現が非常に弱くなっている (Fig. 6)。このことは、HIV 合併結核でも非合併結核でも傾向は変わらなかった。また、気管支肺胞洗浄液細胞を付着性と非付着性細胞に分けて発現を見ると、付着性細胞にほとんどの発現があったことから、C/EBP β は肺胞マクロファージ由来と考えられた。

以上のことから、結核非病巣部の BAL 細胞に発現している C/EBP β short form (16 kDa) が HIV-LTR の negative regulatory element (NRE) に結合し、HIV-1 の転写を抑制するという機序が想定されるが、このことを証明するために、結核病巣部と非病巣部の細胞から蛋白を抽出し、NRE 特異的な oligonucleotide プロブを用いて Electromobility shift assay (EMSA) を行った。結核病巣部の細胞では、NRE と蛋白の明らかな複合体の形成は認められなかったが、結核非病巣部の細胞では、明らかな複合体の形成を示すバンドを認め、このバンドは C/EBP β 特異的な抗体の添加で super shift したことから、NRE と複合体を形成している蛋白は確かに C/EBP β であることが証明された。結核病巣部では、マクロファージ内に貪食された結核菌の刺激により、細胞質内で NF- κ B と I- κ B の解離が起こり、NF- κ B はすみやかに核内に移行して HIV-LTR の NF- κ B 結合部位に結合して転写を促進するが、このとき LTR の上流にある C/EBP β 結合部位に 16 kDa の C/EBP β short form が結合していると dominant negative に転写が抑制される。ところが、病巣部の

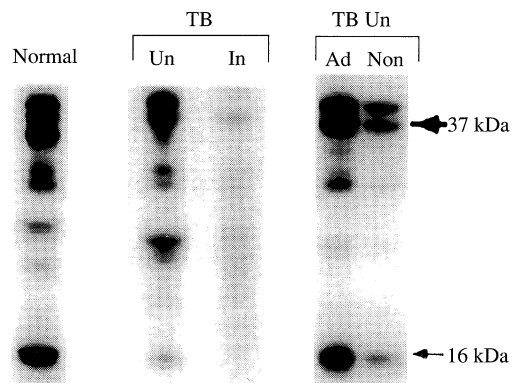


Fig. 6 C/EBP β expression in Bronchoalveolar Lavage (BAL) Cells. BAL cells from a normal control revealed marked spontaneous expression of 37 and 16 kDa C/EBP β isoforms in a Western blot with anti-C/EBP β polyclonal antibody. BAL cells from a HIV-1 negative patient with pulmonary tuberculosis revealed both C/EBP β isoforms in the radiographically uninvolved lobe (Un) but only slight expression of the 37 kDa isoform and no expression of the 16 kDa isoform in the radiographically involved lobe (In). BAL cells from an uninvolved lobe of a HIV-1 positive patient with pulmonary tuberculosis demonstrated marked enrichment of 37 kDa and 16 kDa isoforms in adherent cells (Ad) compared to non-adherent cells (Non).

C/EBP β は何らかの機序により減少ないし消失しており (この機序については後述)、したがって、転写抑制は解除された状態である。そのために HIV 産生が亢進していると考えられる。

(4) 活性化 T 細胞による HIV 産生の増強

エイズ合併結核において HIV を産生する細胞は主としてマクロファージであることが分かっている。それで

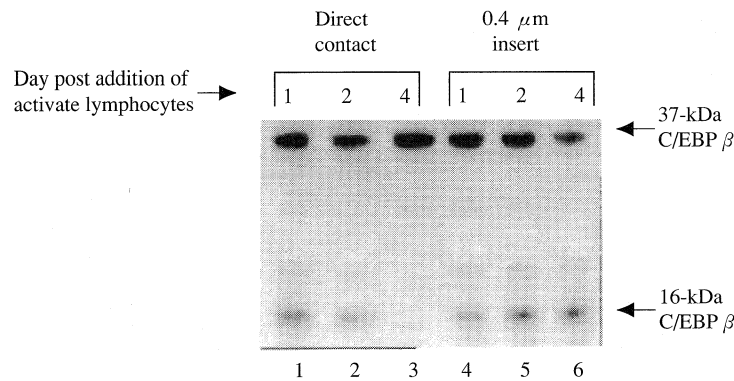


Fig. 7 C/EBP β expression in macrophages with and without lymphocyte contact A western blot probed with C/EBP β antibody demonstrates that expression of the inhibitory 16 kDa C/EBP β is markedly reduced two days after addition of ConA stimulated allogenic lymphocytes (lane 2) and abolished 4 days after addition of allogenic lymphocytes (lane 3). Separation of ConA activated lymphocytes from THP-1 macrophages by a 0.4 μ m filter prevents loss of inhibitory 16 kDa C/EBP β (lanes 4-6).

は、活性化T細胞がどのようにマクロファージのウイルス産生を増強するのであろうか？ 前述したように、HIV感染マクロファージがウイルス産生に向かうためには、抑制性の転写因子であるC/EBP β short formがdown regulateされることが必要である。

Hoshinoらは、HIV感染者の肺胞マクロファージを allogenic lymphocyte と混合培養することで、マクロファージからのHIV産生が増強することを見出した⁷⁾。allo T細胞とマクロファージの混合培養はT細胞の活性化を起こすことが知られている。このとき、マクロファージのC/EBP β の発現をimmunoblottingでみると、C/EBP β short formの発現は培養4日目にはほぼ完全に消失した。つぎに、マクロファージ系細胞株であるTHP-1とConA (T細胞マイトージェン)で活性化したT細胞を混合培養すると、同様にC/EBP β short formの消失が起こり、これは、0.4ミクロンのメッシュで活性化T細胞とマクロファージが直接接触しないようにすると起こらないことから、C/EBP β short formの消失には活性化T細胞とマクロファージの接触が必要であることが示された (Fig. 7)。活性化T細胞とマクロファージの結合およびマクロファージの刺激には、マクロファージ上のcostimulatory moleculeであるCD40, VCAM, B7-1/2とT細胞上のそれぞれCD40 ligand, VLA-4, CD28が結合する必要がある。そこで、CD40, VCAM, B7-1/2に対する抗体を培養マクロファージに添加し、抗体のFcをprotein A/G beadsで架橋すると、C/EBP β short formの消失が起こることがわかった。ところが、HIVの産生には、これらのcostimulatory moleculeの架橋だけでは不十分である。Fig. 8に示すように、costimulatory moleculeと活性化

T細胞が産生するリンフォカインが同時に感染マクロファージに作用することで、HIV-LTRの活性化が起こる。

以上のことを模式図で示すとFig. 9のようになる。結核菌感染によってT細胞の活性化が起こると、T細胞上にCD40 ligand, VLA-4, CD28が発現し、それぞれ、マクロファージ上のCD40, VCAM, B7-1/2と結合することにより、マクロファージの核にあるC/EBP β short formの消失が起こる。また、活性化T細胞は可溶性のリンフォカインを産生し、それが、おそらくマクロファージのNF- κ Bの核内移行を促進するのであろう。核内に移行したNF- κ BはHIVのプロモーターであるHIV-LTRの結合サイトに結合し、プロウイルスの転写を促進するものと考えられる。

(5) HIV-1によるCD4⁺T細胞のApoptosis誘導

結核感染により、T細胞が活性化し、HIVが潜伏感染しているマクロファージと接触することによって、ウイルスプロモーターの活性化が起こりHIV産生の増強が惹起されるという機序はすでに述べた。しかし、産生されたHIVによってCD4⁺T細胞が細胞死を起こす機序については、完全に解明されているわけではない。

最も簡単な細胞死の機序としてHIVの構成蛋白が直接細胞障害に働くという考えである。T細胞トロピックHIV (X4)により、CD4⁺T細胞が細胞死を起こすという報告がある⁸⁾。ウイルス蛋白であるTat, gp120を培養CD4⁺T細胞に加えると、抗Fas抗体による細胞死が惹起される。その他、ウイルス蛋白であるnef, vprなども細胞死に関与しているという報告がある⁹⁾。

しかしながら、*in vivo*においては、T細胞トロピック

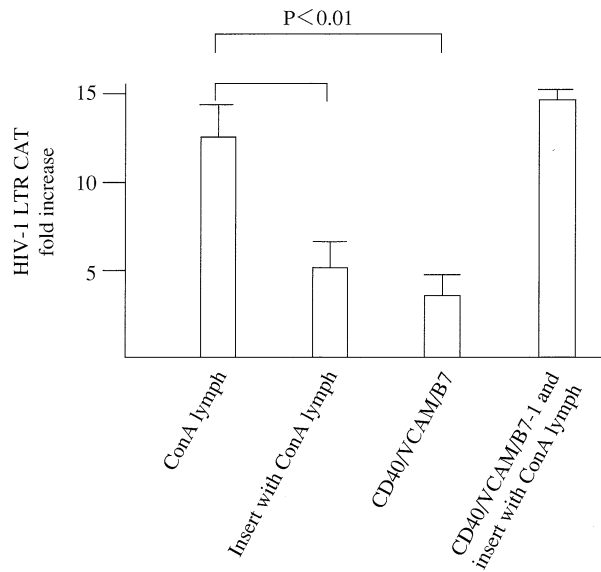


Fig. 8 HIV-1 LTR promoter and NF- κ B activity in THP-1 macrophages. The addition of lymphocytes activated by ConA produces 12.5 ± 1.6 fold increase in HIV-1 LTR CAT production. When the activated lymphocytes were separated from macrophages with a 0.4 μ m pore size insert LTR activity increased only 5.1 ± 1.5 fold ($p < 0.01$ student t test, mean of three experiments). Similarly, LTR activity increased 3.3 ± 1.1 fold when antibodies to CD-40, VCAM and B7 were added in the presence of protein A/G beads ($p < 0.01$ compared to ConA stimulated lymphocytes). LTR activity increased 14.6 ± 0.7 fold when activated lymphocytes were added to the upper chamber of an insert well and stimulatory antibodies with protein A/G beads were added to in the lower chamber.

HIVのみならず、マクロファージトロピック HIV (R5) も CD4⁺T細胞の細胞死を誘導すると考えられているのに、単純にウイルスそのものやその蛋白を培養 CD4⁺T細胞に作用させても著明な細胞死は起こらない。Wangらは、HIV感染者で TGF- β 1の産生が亢進することに注目し、その存在下で R5-HIVによる CD4⁺T細胞の細胞死を観察した。TGF- β 1は、リンパ球の coreceptor(CXC4, CCR5)の発現を増強させ、R5と X4 HIVのリンパ球への感染をともに促進するが、同時に CD4⁺T細胞の細胞死を誘導した¹⁰⁾。つまり、R5 HIVは TGF- β 1との共存下で CD4⁺T細胞の細胞死を誘導し、X4 HIVは TGF- β 1の非存在下でも細胞死を惹起する。

結 語

HIVが潜伏感染したマクロファージが、結核菌による炎症により、ウイルス産生を開始する機構は、以上のように複雑な連鎖反応である。あえて簡略化するとFig. 10のようになる。結核菌感染により、一次、二次免疫応答として抗原特異的なT細胞の活性化が起こり、そのT細胞と HIV 潜伏感染マクロファージが接触し、かつ活性

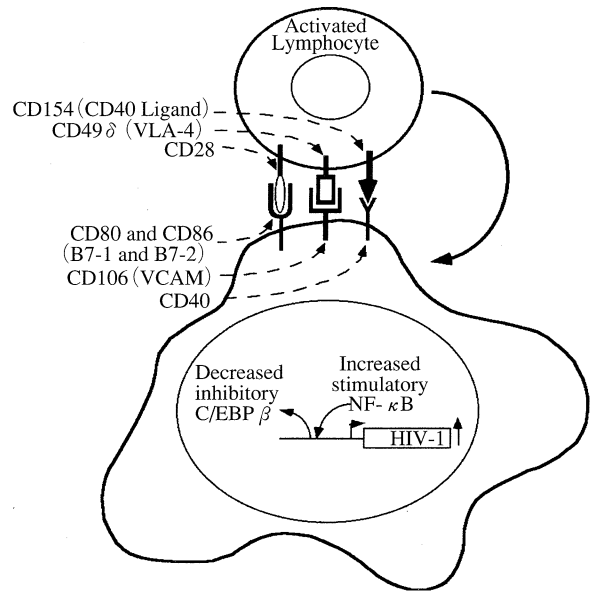


Fig. 9 A model of lymphocyte/macrophage interaction during the cellular immune response leading to increased HIV-1 replication. Contact leads to loss of inhibitory C/EBP β , depressing the 5' HIV-1 LTR while soluble factors activate NF- κ B, enhancing HIV-1 replication.

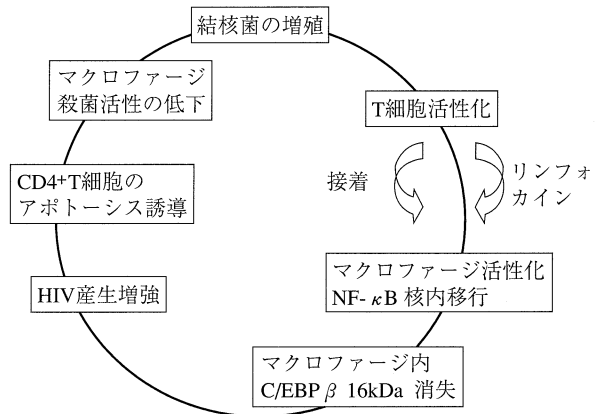


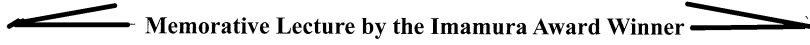
Fig. 10 Mechanism for HIV production in HIV-tuberculosis coinfected hosts and progression of AIDS. Contact between activated lymphocytes and macrophages is necessary to down-regulate inhibitory C/EBP β , thereby derepressing the HIV-1 LTR. Lymphocyte derived soluble factor (s) activate NF- κ B, further enhancing the HIV-1 LTR.

化T細胞が放出するリンフォカインの刺激によりマクロファージの活性化が惹起される。別経路として菌ないし、菌体成分の刺激によるマクロファージの活性化も考えられる。活性化T細胞と接触したマクロファージ内では、NF- κ Bの核内移行と C/EBP β の核からの消失が起こり、プロウイルス上のLTRにNF- κ Bが結合することによって、ウイルスの転写が促進する。産生された HIVは CD4⁺T細胞のアポトーシスを誘導し、徐々に減少させ

る。CD4⁺T細胞の減少により、マクロファージによる殺菌、肉芽腫形成は障害され、菌は血行性リンパ行性に散布されやすくなる。そして散布された菌は新たな部位で炎症を惹起し、上記の HIV-結核サイクルを繰り返すことになる。TCAサイクルは酸素とグルコースを消費し、ATPを産生するが、HIV-結核サイクルはCD4を消費し、HIVと結核菌を産生することになる。このサイクルは病局所で連続的に、かつ治療しないかぎり、宿主を死に至らしめるまで続き、エイズ合併結核に特有の病態を形成していくのである。

文 献

- 1) Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, et al.: A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989; 320: 545-550.
- 2) Whalen CC, Horsburgh CR, Hom D, et al.: Accelerated course of human immunodeficiency virus infection after tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 151: 129-135.
- 3) Nakata K, Rom WN, Honda Y, et al.: *M. tuberculosis* enhances human immunodeficiency virus-1 replication in the lung. *Am J Resp Crit Care Med.* 1997; 155: 996.
- 4) Zhang Y, Nakata K, Weiden M, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* enhances HIV-1 replication by transcriptional activation at the long terminal repeat. *J Clin Invest.* 1995; 95: 2324-2331.
- 5) Honda Y, Rogers L, Nakata K, et al.: Type I interferon induces inhibitory 16kDa C/EBP- β repressing the HIV-1 LTR in Macrophages: pulmonary tuberculosis alters C/EBP expression enhancing HIV-1 replication. *J Exp Med.* 1998; 188: 1255.
- 6) Ossipow V, Descombes P, Schibler U, et al.: CCAAT/enhancer-binding protein mRNA is translated into multiple proteins with different transcription activation potentials. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90: 8219-8223.
- 7) Hoshino Y, Nakata K, Hoshino S, et al.: Maximal HIV-1 Replication in Alveolar Macrophages during Tuberculosis Requires Both Lymphocyte Contact and Soluble Factors. *J Exp Med.* 2002; 195: 495-505.
- 8) Roggero R, Rovert-Hebmann V, Harrington S, et al.: Binding of human immunodeficiency virus type1 gp120 to CXCR4 induces mitochondrial transmembrane depolarization and cytochrome c-mediated apoptosis independently of Fas signaling. *J Virol.* 2001; 75(16): 7637-7650.
- 9) Roshal M, Zhu Y, Planelles V: Apoptosis in AIDS. *Apoptosis.* 2001; 6: 103-116.
- 10) Hertoghe T, Waija A, Ntambi L, et al.: T cell activation, apoptosis and cytokine dysregulation in the pathogenesis of HIV and pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol.* 2000; 122: 350-357.


 Memorative Lecture by the Imamura Award Winner

MOLECULAR PATHOGENESIS IN TUBERCULOSIS COMPLICATED WITH AIDS

¹Koh NAKATA, ⁵Yoshihiko HOSHINO, ²Yoshihiro HONDA,
³Naohiko TANAKA, ⁴Akira HEBISAWA, and ⁵Michael WEIDEN

Abstract HIV-1 infection is a major cause of worldwide epidemic of tuberculosis. There is increasing clinical evidence that coinfection with *M. tuberculosis* accelerates progression of AIDS. We found that, *in vivo*, HIV-1 load and mutation increase in involved lung segments in patients with pulmonary tuberculosis. We also reported that *Mycobacterium tuberculosis* stimulates HIV-1 replication by enhancing transcription on the 5' LTR in a macrophage cell line, THP-1, *in vitro*. In contrast, HIV-1 replication is suppressed by *M. tuberculosis* infection of monocytes derived macrophages (MDM) or differentiated monocytic THP-1 cells. We observed that HIV-1 5' LTR function was repressed in PMA differentiated THP-1 cells after co-infection with *M. tuberculosis*. Point mutations in C/EBP β binding domains of the HIV-1 LTR negative regulatory element (NRE) abolished promoter repression. Monocyte-derived macrophages and differentiated THP-1 cells increased expression of the 16kDa inhibitory form of C/EBP after *M. tuberculosis* co-infection. Bronchoalveolar lavage cells obtained from normal controls and alveolar macrophages from uninflamed lung of tuberculosis patients also expressed the 16kDa inhibitory form of C/EBP. However, alveolar macrophages from lung segments involved with pulmonary tuberculosis had markedly reduced C/EBP expression. These data suggest that 16kDa isoform of C/EBP plays an important role for the control of HIV-1 replication in macrophages. We propose derepression of HIV-1 LTR mediated transcription as one mechanism for enhanced HIV-1 replication observed in pulmonary tuberculosis. Since the cellular immune response in pulmonary tuberculosis requires lymphocyte/macrophage interaction, a model system was developed in which lymphocytes were added to AM. Contact between lymphocytes and AM reduced inhibitory C/EBP β , activated NF- κ B and en-

hanced HIV-1 replication. If contact between lymphocytes and macrophages was prevented, inhibitory C/EBP β expression was maintained and the HIV-1 long terminal repeat (LTR) was not maximally stimulated although NF- κ B was activated. Antibodies which cross-linked macrophage expressed B-7, VCAM and CD-40 were used mimic lymphocyte contact. Cross-linking antibodies abolished inhibitory C/EBP β expression; however, the HIV-1 LTR was not maximally stimulated and NF- κ B was not activated. Maximal HIV-1 LTR stimulation required both lymphocyte derived soluble factors and cross-linking of macrophage expressed co-stimulatory molecules. These results demonstrate that neither contact nor soluble factor(s) are sufficient to maximally enhance HIV-1 LTR activity in macrophages. Contact between activated lymphocytes and macrophages is necessary to down-regulate inhibitory C/EBP β , thereby derepressing the HIV-1 LTR. Lymphocyte derived soluble factor(s) activate NF- κ B, further enhancing the HIV-1 LTR.

Key words: Human immunodeficiency virus, *Mycobacterium tuberculosis*, Transcription factor, Macrophage

¹Bioscience Medical Research Center, Niigata Medical Dental Hospital, ²Sendai Kosei Hospital, ³School of Medicine, Kitasato University, ⁴National Hospital Organization Tokyo National Hospital, ⁵New York University Medical Center

Correspondence to: Koh Nakata, Bioscience Medical Research Center, Niigata Medical Dental Hospital, 1-754, Asahimachi-dori, Niigata-shi, Niigata 951-8510 Japan.
 (E-mail: knak@med.niigata-u.ac.jp)