

結核に対する感染防御機構

河村伊久雄

キーワード：結核菌，マクロファージ，ファゴリソソーム，アポトーシス，ネクローシス，サイトカイン， $CD4^+$ T細胞， $CD8^+$ T細胞， $\gamma\delta$ T細胞

はじめに

結核は世界的にみて今なお単一の病原体による最大の感染症である。WHOはこれまでに世界人口の約3割が結核の感染を受け、2008年にはおよそ940万人の結核患者が発生し、約180万人が結核で死亡したと推定している (www.who.int/tb/publications/global_report)。結核患者の発生はアフリカおよびアジアなどの発展途上国に多くみられるが、多剤耐性結核菌の出現頻度の増加や、結核蔓延国からの人的流入などにより、先進国においても今後結核の増加が懸念される。わが国においては、これまで減少を続けてきた結核の新規罹患率、有病率が増加に転じ、平成11年には厚生省（現、厚生労働省）から結核緊急事態宣言が出されるに至った。現在わが国の結核罹患率は米国の約5倍、欧米主要国の数倍あり、結核は今もなおわれわれの脅威であることを忘れてはならない。

結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) は生体内では細胞内寄生性を示し、マクロファージに貪食されてもその細胞内殺菌機構に抵抗して、細胞内で長期間生存することができる。多くの場合、結核菌はそのまま増殖せずにヒトに持続的に感染するが、5~10%の感染宿主で結核が再燃し、成人にみられる慢性結核を発症する。旧来より菌がどのようにして宿主防御免疫に抵抗し、生存し続けるのかという問題について精力的な研究がなされてきたが、1998年に結核菌の全塩基配列が決定されたことが転機となり、現在では菌の病原性に重要と考えられるいくつかの因子が同定されている。また最近、結核に対する感染防御には $CD4^+$ T細胞、 $CD8^+$ T細胞や $\gamma\delta$ T細胞以外に、 $TH17$ 細胞や制御性T細胞が関与すること

が示されており、抗結核防御免疫が様々なT細胞によって形成された複雑なネットワークの上に成り立っていることが示されている。本項では、菌の宿主防御免疫に対する抵抗性機序を示すと同時に、これまでに明らかにされた宿主感染防御免疫のメカニズムについて解説する。

結核菌の抵抗性機序

結核菌は宿主体内に侵入後、肺胞マクロファージ、樹状細胞 (dendritic cell, DC) あるいは単球に侵入する。この細胞内侵入にはマクロファージ表面の補体レセプター、マンノースレセプター、Fcレセプター、フィブロネクチンあるいはスカベンジャーレセプターなどが関与する²⁾。これら細胞表面レセプターを介した結核菌の細胞内侵入は、マクロファージの殺菌機構や、感染防御に關与する $TH1$ 型サイトカイン産生を亢進しないことが示されており、これら細胞表面レセプターを介した食細胞と菌とのinteractionは、結核菌が宿主初期防御反応を刺激せずに細胞内寄生を成立させるための重要なメカニズムである³⁾⁴⁾。また、結核菌は菌体表面の mycobacterial mammalian cell entry protein 1A や mycobacterial DNA-binding protein 1 を介して非貪食細胞である肺胞上皮細胞に侵入することができる⁵⁾⁶⁾。感染した病原体を排除する能力が弱い上皮細胞への侵入は、結核菌の宿主体内での長期生存をより容易にするものと考えられる。

マクロファージに侵入した菌はファゴソーム内で増殖する。通常、ファゴソームの成熟が進むとファゴソームはリソソームと融合してファゴリソソームが形成される。このファゴリソソーム内の環境は結核菌にとっても殺菌的である。しかし、結核菌はファゴリソソーム

形成を阻害し、ファゴソーム内の環境を自身の生存に適したものに変わってしまう⁷⁾。また、結核菌は ESX 分泌装置を利用してファゴソームを脱出する能力があることが示唆されている⁸⁾⁹⁾。結核菌のファゴリソーム形成抑制機序には、細胞壁主要成分の lipoarabinomannan (LAM) と lipid phosphatase である SapM が重要な役割を果たしている¹⁰⁾ (図 1)。ファゴソームとリソソームの融合には phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) により合成されるファゴソーム膜上の phosphatidylinositol 3-phosphate (PI3P) が重要であるが、菌体から遊離した LAM は細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を抑えることで early endosome antigen 1 (EEA1) や PI3K のファゴソームへの動員を抑制し、ファゴソーム膜上の PI3P の合成を阻害する。また、結核菌は sphingosine kinase の活性を抑制し、小胞体からの Ca^{2+} 流出を抑えることでファゴソームの成熟過程を阻害することが示されている¹¹⁾¹²⁾。さらに、SapM は PI3P の脱リン酸化を引き起こすことで、ファゴリソーム形成を抑制することが示されている¹³⁾。これらに加えて、Jayachandran らは、マクロファージに存在する coronin 1 が結核菌を含むファゴソームに集積し、 Ca^{2+} 依存性脱リン酸化酵素 calcineurin が活性化することでファゴリソーム融合が阻害されることを明らかにした¹⁴⁾。さらに最近、結核菌を感染させたマクロファージにオートファジーを誘導すると、細胞内菌数が減少することが示された。オートファジーは、細胞の恒常性維持に必要と考え

られてきた機構であるが、この結果は、オートファジー経路が結核菌の細胞内殺菌にも関与することを示すものである¹⁵⁾¹⁶⁾。しかし、結核菌感染マクロファージにオートファジーを誘導するためには、interferon- γ (IFN- γ) によるマクロファージの活性化が必要であることから、結核菌はオートファジーの誘導に必要な PI3K 活性を抑制することで、ファゴリソーム融合だけでなく、オートファジー経路も抑制していることが示唆される。

このようなマクロファージの細胞内殺菌に対する抵抗性に加えて、結核菌強毒株はマクロファージのアポトーシスを抑制するメカニズムを有することが示されている¹⁷⁾¹⁸⁾。感染マクロファージがアポトーシスに陥ると結核菌の細胞内増殖が抑制され、カスパーゼ阻害剤を用いてアポトーシス誘導を阻害すると菌の細胞内増殖が回復することから、アポトーシスは結核菌に対する宿主側の初期防御反応と捉えることができる。従って、結核菌の有するアポトーシス抑制活性は、増殖の場を確保するという意味で重要な機序であり、細胞内寄生を可能にするために必須であると考えられる。

さらに感染が進むと、感染病巣部には肉芽腫が形成される。これは感染の拡大を防ぐための一種の封入組織であり、菌を貪食したマクロファージを中心にその周りをランゲルハンス巨細胞、リンパ球やマクロファージが取り囲んだ構造をしている。肉芽腫内部、あるいは宿主組織内は酸素分圧が低く、偏性好気生菌である結核菌には

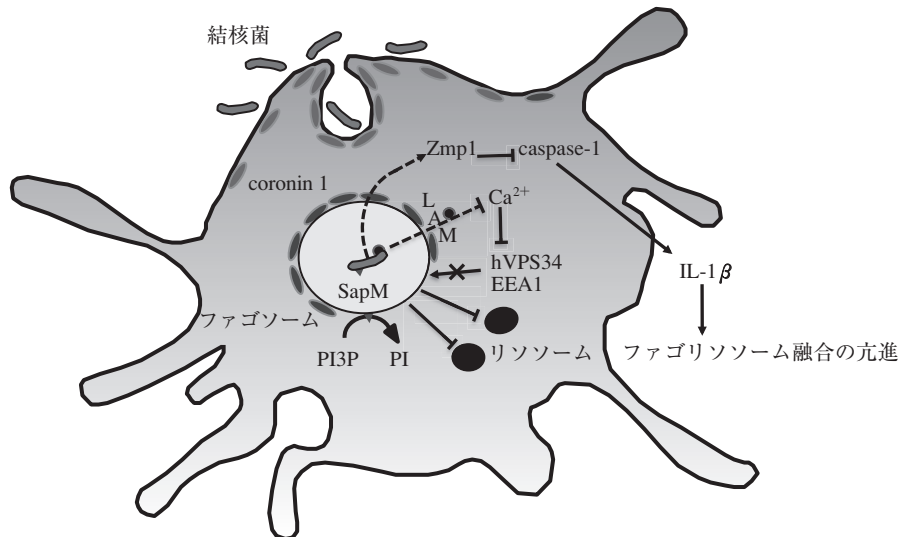


図 1 結核菌によるファゴリソーム融合阻害機序

結核菌を取り込んだファゴソームの周囲には coronin 1 が集積する。また、結核菌が産生する PI3P phosphatase である SapM はファゴソーム膜上の PI3P の脱リン酸化を起こす。結核菌より遊離した LAM は細胞質内の Ca^{2+} 濃度の上昇を抑え、phosphatidylinositol 3-kinase である hVPS34 や early endosome antigen 1 (EEA1) のファゴソームへの動員を抑制する。これらの機序により、ファゴリソーム融合が阻害される。また、結核菌が産生する Zn^{2+} metalloprotease である Zmp1 は caspase-1 の活性化を抑制する。その結果、IL-1 β 依存的なファゴリソーム融合経路が阻害される。

非常に苛酷な環境と考えられる。しかし、結核菌はその代謝系を環境に適応したものに切り替えて細胞内での生存を可能にしていることが示されており、その結果パーシスターとして休眠状態 (dormancy) へと移行するものと考えられる¹⁹⁾。McKinneyらは、結核菌が肺で持続感染を成立させるためにはイソクエン酸リアーゼ (isocitrate lyase, ICL) が重要な役割を果たすことを示した²⁰⁾。ICLは、脂質を材料とした糖の生合成経路、グリオキシル酸サイクルの酵素の一つである。肉芽腫内に存在する結核菌のICL活性が菌の生存に重要であるということは、菌が酸素分圧の低い環境では脂質を炭素源として利用することを示すものである。その他にも低酸素条件で誘導される遺伝子として熱ショックタンパクの一種である α -crystallinやnitrate reductase, またはEisやKatGなどが細胞内増殖や持続感染に関与する因子として報告されており、菌がパーシスターとして存在するためには非常に複雑なメカニズムが働いていると思われる (表)。

宿主防御システムがいったん低下しはじめると、休眠状態に移行した菌が再び増殖を始め、結核が再燃する。この場合、菌の増殖が認められた組織には、ネクロシスに陥った細胞が多数認められる。これまでの解析から、菌の病原性とネクロシス誘導能には関連があり、細胞内で増殖した菌が感染細胞を破壊し、細胞外に出て感染を拡大するためには、感染細胞のネクロシス誘導が重要なステップであると考えられている。さらに、分子レベルの解析の結果、結核菌による感染マクロファージのネクロシス誘導には結核菌ゲノム上のRD1領域が重要な役割を果たしており、この領域に存在する遺伝子産物が、ミトコンドリア膜障害を引き起こし、細胞内ATP濃度が減少するため、細胞がネクロシスに陥るこ

とが示されている²¹⁾。一方、結核菌が細胞内増殖する感染初期には、菌はカスパーゼ9の活性化を誘導してネクロシスを抑制する機序を有することが示されている²²⁾。このような結核菌による感染マクロファージの細胞死の制御は、生体内での生存増殖に寄与するところは大きいと考えられる。

結核菌に対する初期感染防御反応

マクロファージやDCの感染局所への動員、あるいは結核菌貪食後のマクロファージの活性化は結核菌に対する初期防御反応だけでなく、特異的免疫応答の誘導においても重要である (図2)。マクロファージやDCは細胞表面のToll-like receptor (TLR) を介して結核菌を認識する。TLR2は結核菌の主要な細胞壁リポ多糖体成分であるLAM, フォスファチジルイノシトールマンノシド (phosphatidylinositolmannoside, PIM) あるいは19 kDaリポタンパク質を認識することが示されている。また、易熱性結核菌体抗原はTLR4により識別される。その結果、マクロファージやDCが活性化され、炎症性サイトカインが産生される。また、19kDaリポタンパク質を介したTLR2の刺激はマクロファージのアポトーシスを誘導することや、TLR4リガンドの刺激が、オートファジーを誘導することが最近明らかとなり、これら結核菌成分とTLRリガンドのinteractionが、細胞死やオートファジー経路を介した初期防御反応の誘導にも関与することが示されている^{23) 24)}。一方、病原性の強い結核菌やBCGのLAMはその先端にマンノース残基が付加しており (Man-LAM), 非定型抗酸菌のLAMとは構造的に異なる。このMan-LAMはTLR2分子を介したマクロファージの活性化を誘導せず、これが結核菌の病原性において重要なメ

表 結核菌の感染成立に関与する病原性関連遺伝子

遺伝子番号	遺伝子	機能	文献
Rv0353	<i>hspR</i>	Transcriptional repressor	Stewart GR, et al., Nature Med. 2001 ; 7 : 732-727.
Rv0467	<i>icl</i>	isocitrate lyase	McKinney JD, et al., Nature. 2000 ; 406 : 735-738.
Rv0470c	<i>pcaA</i>	Cyclopropane synthase	Glickman MS, et al., Mol Cell. 2000 ; 5 : 717-727.
Rv0981	<i>mprA</i>	Two-component regulator	Zahrt TC, et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2001 ; 98 : 12706-12711.
Rv1027/8c	<i>kdpDE</i>	Two-component regulator	Parish T, et al., Infect Immun. 2003 ; 71 : 1134-1140.
Rv1032c	<i>trcS</i>	Two-component regulator	Parish T, et al., Infect Immun. 2003 ; 71 : 1134-1140.
Rv1161-4	<i>narGHJI</i>	Nitrate reductase	Fritz C, et al., Infect Immun. 2002 ; 70 : 286-291.
Rv1651c/3812	<i>mag24-1</i>	PE-PGRS	Ramakrishnan L, et al., Science. 2000 ; 288 : 1436-1439.
Rv1736v	<i>narX</i>	Fused nitrate reductase	Fenhalls G, et al., Infect Immun. 2002 ; 70 : 6330-6338.
Rv1737c	<i>narK2</i>	Nitrate/nitrite transpoter	Hutter B, et al., FEMS Microbiol Lett. 2000 ; 188 : 141-146.
Rv1908c	<i>katG</i>	Catalase-peroxidase	Li Z, et al., J Infect Dis. 1998 ; 177 : 1030-1035.
Rv2031c	<i>hspX</i>	α -crystallin	Yuan Y, et al., J Bacteriol. 1996 ; 178 : 4484-4492.
Rv2583c	<i>relA</i>	GTP pyrophosphokinase	Primm TP, et al., J Bacteriol. 2000 ; 182 : 4889-4898.
Rv3132c	<i>devR</i>	Two-component regulator	Parish T, et al., Infect Immun. 2003 ; 71 : 1134-1140.
Rv3286c	<i>sigF</i>	RNA polymerase σ factor	Chen P, et al., Infect Immun. 2000 ; 68 : 5575-5580.
Rv3764/5c	<i>trcXY</i>	Two-component regulator	Parish T, et al., Infect Immun. 2003 ; 71 : 1134-1140.
	<i>zmp1</i>	Zn ²⁺ metalloprotease	Master SS, et al., Cell Host & Microbes. 2008 ; 3 : 224-232.

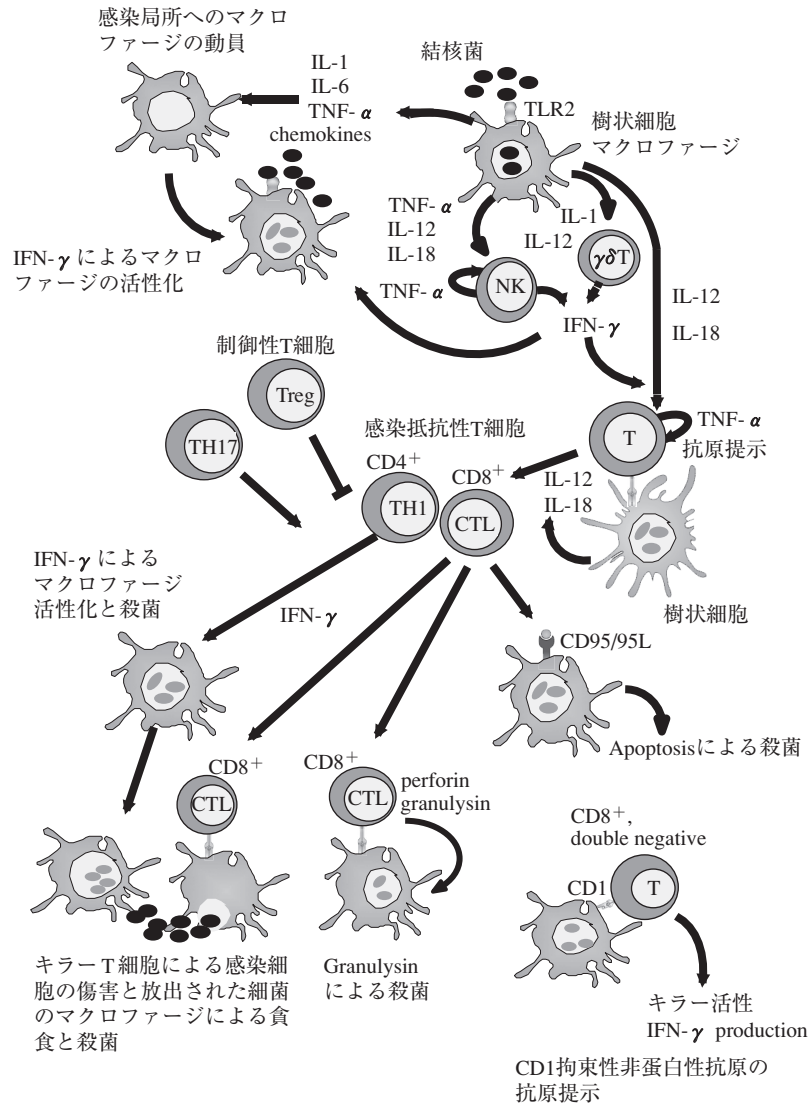


図2 抗結核感染防御の誘導および発現機序

マクロファージはTLRを介して結核菌を認識し、炎症性サイトカインやケモカインを産生してマクロファージやT細胞を感染局所に動員する。また、マクロファージが産生するIL-12、IL-18、IL-1およびTNF- α は、NK細胞および $\gamma\delta$ T細胞に作用して初期防御に重要なIFN- γ 産生を誘導する。IFN- γ はマクロファージの細胞内殺菌能を増強すると共にIL-12産生を亢進させる。さらに、これらTH1サイトカインは、IFN- γ 産生性CD4⁺T細胞を分化誘導する。抗原特異的CD8⁺T細胞は、CD4⁺T細胞と同様に大量のIFN- γ を産生するだけでなく、granulysinの産生あるいは感染細胞にapoptosisを誘導することにより菌を排除する。CD1拘束性に非タンパク性抗原を提示されたCD8⁺あるいはdouble negative T細胞はキラー活性およびIFN- γ 産生を介して防御免疫に関与する。また、TH17細胞は感染防御に関与するT細胞の感染局所への動員に関与する。一方、制御性T細胞(Treg)は過剰な宿主応答を抑制することで感染防御応答を間接的にサポートする。

カニズムの一つと考えられている²⁵⁾。結核菌を貪食したマクロファージは活性化される。この過程では結核菌の細胞壁糖脂質成分であるtrehalose-6,6'-dimycolate (TDM)のmacrophage inducible C-type lectin (Mincle)による識別が重要であり、その結果として強い炎症反応や一酸化窒素産生あるいは肉芽腫形成が誘導される²⁶⁾。活性化したマクロファージはRANTES (regulated on activation normally T-cell expressed and secreted), macrophage migration inhibi-

tory protein 1- α (MIP1- α), MIP2, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), MCP-3, MCP-5, IP-10などのケモカインを産生し、感染局所への炎症性細胞を動員する。また、感染マクロファージが産生するサイトカインのうち、tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), IL-12やIL-18はマクロファージを活性化し、肉芽腫形成や感染初期の菌の増殖を抑制すると共に、ナチュラルキラー(NK)細胞あるいは $\gamma\delta$ 型T細胞からのIFN- γ 産生を誘

導する重要な役割を担っている。産生された IFN- γ は TNF- α と共にマクロファージを活性化し、殺菌活性の非常に強い NO 産生を誘導して貪食した菌を殺菌処理する。また、この IFN- γ は感染防御を司る T 細胞の分化因子としても作用する。さらに、感染初期の肺では IL-23 依存的に $\gamma\delta$ T 細胞により産生された IL-17 が T 細胞からの IFN- γ 産生や肉芽腫形成に関与し、結核に対する感染防御を亢進させることが最近明らかにされている^{27)~29)}。このように結核に対する初期防御反応では、感染局所で産生されたケモカインや炎症性サイトカインがマクロファージ、NK 細胞や $\gamma\delta$ T 細胞を感染部位に集め、それらを活性化し、その結果産生された IFN- γ がさらにマクロファージを活性化して、特異的防御免疫が成立するまでの期間、菌の増殖を最小限に抑えている。

結核に対する獲得抵抗性

結核菌を貪食したマクロファージや DC が産生する IL-12 や IL-18、あるいは NK 細胞や $\gamma\delta$ T 細胞由来の IFN- γ は、IFN- γ 産生能を有する感染抵抗性 TH1 細胞を誘導する。この T 細胞の分化誘導には、抗原提示細胞として DC が重要な役割を果たしている。一方、結核菌はこの DC の機能を抑制する活性を有することが示されている³⁰⁾。TH1 に分化した $\alpha\beta$ 型 T 細胞は、抗原および IL-18 の刺激を受けて大量の IFN- γ を産生する。このため、感染防御を担う T 細胞が出現するとマクロファージの殺菌能が飛躍的に亢進する。感染免疫に関与する T 細胞としては、class II 拘束性 CD4⁺ TH1 細胞ばかりではなく、class I 拘束性 CD8⁺ キラー T 細胞も同時に誘導される。ファゴソーム内で処理された細菌由来の抗原は通常 class II 分子に結合して T 細胞に抗原提示されるため、CD4⁺ TH1 型 T 細胞により認識される。しかし、細胞質に存在する細菌由来抗原はプロテオソームにより消化され class I 分子と会合するため、CD8⁺ T 細胞による認識を受ける。結核菌感染により誘導される CD8⁺ T 細胞は、CD4⁺ T 細胞と同様 IFN- γ を産生すると同時に、多量の菌を貪食して殺菌能の低下したマクロファージや菌が感染した非食細胞系細胞を破壊し、新たに動員されてくる活性化マクロファージに菌を処理させるという機構で感染防御に関与すると考えられる。また、CD8⁺ キラー T 細胞は、結核菌感染細胞を傷害することで内部の菌を殺菌することができ、細胞質顆粒中に含まれる perforin と granulysin がこの殺菌メカニズムに関与することが報告されている³¹⁾。さらに、タンパク質以外の LAM, PIM, glucose monomycolate や isoprenoid glycolipids などの糖脂質成分がマクロファージ上の CD1 分子に結合し、CD8⁺ あるいは double negative T 細胞に抗原として提示される³²⁾。これらを認識する CD1 拘束性 T 細胞は、抗原刺激後に

IFN- γ 産生やキラー活性を発揮することで防御免疫に関与することが示唆されている。また最近、IL-17 産生性 T 細胞が CXCL9, CXCL10 や CXCL11 の産生を介して、感染局所への IFN- γ 産生性 T 細胞の動員に関与することが示された³³⁾。このように、防御免疫の発現にはその機能あるいは認識する抗原が異なる多様な T 細胞が関与する。感染の経過に伴いそれぞれの T 細胞の防御免疫における比重は異なると考えられるが、これら T 細胞活性の総和が結果的に結核菌に対する宿主の抵抗性を規定している。

結核菌による感染防御免疫の制御

結核菌を実験的に感染させたマウスには、非常に強力な防御免疫が発現し、菌の増殖を抑えることができる。しかし、菌はこの殺菌機構に強く抵抗するため、体内より排除することは容易ではない。また、結核菌の持続的な感染は宿主に過剰な免疫応答を誘発し、その結果肉芽腫内部の空洞化や感染局所周辺の正常組織の破壊が引き起こされる。この点から、結核に対する感染防御機構を効率よく発揮させるためには、菌の排除に積極的に関与する TH1 型の免疫応答に加えて、その反応を適度に制御するための抑制性機序が重要となる。最近、Foxp3⁺ 制御性 CD4⁺ T 細胞が肺結核患者の末梢血や感染局所で増加することが示されている³⁴⁾。制御性 T 細胞は抗原提示細胞、あるいは TH1 細胞機能を direct contact または抑制性サイトカイン産生を介して抑制することが報告されており³⁵⁾³⁶⁾、制御性 CD4⁺ T 細胞の増加が防御免疫応答の抑制につながるということが報告されている^{37)~43)}。また、活性化 CD4⁺ T 細胞上に発現する免疫補助因子 programmed cell death1 (PD-1) と抗原提示細胞上の PD-L1 (PD-1 のリガンド) との結合は TH1 細胞上の T 細胞抗原受容体からのシグナルを阻害することで、TH1 細胞の活性化を抑制することが明らかにされている⁴⁴⁾。結核感染者 T 細胞の IFN- γ 産生が PD-1 シグナル伝達系を阻害することにより亢進することから、PD-1 を介した抑制性シグナル経路も結核に対する防御免疫の制御に関与することが示唆されている⁴⁵⁾。さらに、結核菌の感染では TH1 と共に TH2 応答が誘導されるが、TH2 サイトカインにより活性化されたマクロファージは結核菌の増殖を制御することができないことが示されている⁴⁶⁾。これら TH1 型感染防御に対して抑制的に作用する免疫応答は、いずれも結核菌感染後に誘導され菌の排除には negative に作用するが、結核菌に対する過剰な反応を抑制するためには必要な宿主応答である。従って、これら相反する免疫応答の発現を調節し、防御反応を効率よく発現させることが今後の重要な課題となる。

宿主体内にパーシスターとして共存している菌は、結

核に対する宿主防御免疫の変化に伴い増殖をはじめめる。これを結核の内因性再燃と呼び、その原因のひとつとして加齢に伴う宿主免疫応答の低下があげられる。上述のとおり、結核に対する防御反応には多くの免疫細胞が関与するが、このうち抗原提示細胞であるDCやマクロファージ機能の加齢による低下はあまりないことが示されている⁴⁷⁾。しかし、感染防御の主体となるT細胞は加齢の影響を受ける。Millerは、抗CD3抗体に対するT細胞応答が加齢と共に低下し、これが細胞内シグナル経路の活性化の低下によることを示した⁴⁸⁾。Vallejoらは、抗原提示に重要な costimulatory 分子であるCD28のCD4⁺T細胞表面での発現が老齢マウスのT細胞では低下することを示している⁴⁹⁾。また、T細胞上のインテグリン分子の発現が年齢とともに変化し、これが感染局所へのT細胞の動員に影響することが示唆されている⁵⁰⁾。さらに、T細胞分化のための主要な臓器である胸腺の機能は年齢と共に低下し、機能的に分化したCD4⁺T細胞の平均分裂回数が30回余り(CD8⁺T細胞は平均23回)であることから、年齢と共にメモリーT細胞のプールが減少することがわかっている。このように、加齢によるT細胞機能の質的および量的な低下が結核に対する抵抗性の減弱の背景にあり、結果としてこれが高齢者における結核の高い罹患率に結びつくものと考えられる。また、加齢に伴い種々の疾病に罹患することが結核の再燃を加速するものと考えられ、この点は高齢者の結核対策において十分に考慮されなければならない問題である。

おわりに

結核菌はヒトを宿主として共生することに最も成功した微生物の一つであり、ヒトへの感染の歴史は紀元前までに遡ることができる。この結核菌には宿主防御免疫に抵抗するための複雑な回避機構があり、現在そのメカニズムが次第に明らかになってきた。また、抗結核防御免疫は様々なT細胞によって形成された複雑なネットワークにより制御されており、それらT細胞の機能を適切にコントロールすることで、結核に対する感染防御能を高めることが可能になるものと考えられた。今後さらなる研究成果の蓄積が、結核菌の病原性の解明だけでなく、新たな予防ワクチンの開発や、結核の撲滅に結びつくものと期待される。

文 献

- 1) Cole ST, Brosch R, Ganier PT, et al.: Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*. 1998 ; 393 : 537-544.
- 2) van Crevel R, Ottenhoff THM, Van der Meer JWM.: Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev*. 2002 ; 15 : 294-309.

- 3) Nigou J, Zelle-Rieser C, Gilleron M, et al.: Mannosylated lipoarabinomannans inhibit IL-12 production by human dendritic cells: Evidence for a negative signal delivered through the mannose receptor. *J Immunol*. 2001 ; 166 : 7477-7485.
- 4) Malik ZA, Menning GM, Kusner DJ: Inhibition of Ca²⁺ signaling by *Mycobacterium tuberculosis* is associated with reduced phagosome-lysosome fusion and increased survival within human macrophages. *J Exp Med*. 2000 ; 191 : 287-302.
- 5) Kohwiwattanagun J, Kawamura I, Fujimura T, et al.: Mycobacterial mammalian cell entry protein 1A (Mce1A)-mediated adherence enhances the chemokine production by A549 alveolar epithelial cells. *Microbiol Immunol*. 2007 ; 51 : 253-261.
- 6) Aoki K, Matsumoto, S, Hirayama Y, et al.: Extracellular mycobacterial DNA-binding protein 1 participates in *Mycobacterium*-lung epithelial cell interaction through hyaluronic acid. *J Biol Chem*. 2004 ; 279 : 39798-39806.
- 7) Pethe K, Swenson DL, Alonso S, et al.: Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* mutants defective in the arrest of phagosome maturation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004 ; 101 : 13642-13647.
- 8) Simeone R, Bottai D, Brosch R: ESX/type VII secretion systems and their role in host-pathogen interaction. *Curr Opin Microbiol*. 2009 ; 12 : 4-10.
- 9) Van der Wel N, Hava D, Houben D, et al.: *M. tuberculosis* and *M. leprae* translocate from the phagolysosome to the cytosol in myeloid cells. *Cell*. 2007 ; 129 : 1287-1298.
- 10) Deretic V, Singh S, Master S, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* inhibition of phagolysosome biogenesis and autophagy as a host defence mechanism. *Cell Microbiol*. 2006 ; 8 : 719-727.
- 11) Malik ZA, Thompson CR, Hashimi S, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* blocks Ca²⁺ signaling and phagosome maturation in human macrophages via specific inhibition of sphingosine kinase. *J Immunol*. 2003 ; 170 : 2811-2815.
- 12) Thompson CR, Iyer SS, Melrose N, et al.: Sphingosine kinase 1 (SK1) is recruited to nascent phagosomes in human macrophages: inhibition of SK1 translocation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol*. 2005 ; 174 : 3551-3561.
- 13) Vergne I, Chua J, Lee H-H, et al.: Mechanism of phagolysosome biogenesis block by viable *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005 ; 102 : 4033-4038.
- 14) Jayachandran R, Sundaramurthy V, Combaluzier B, et al.: Survival of *Mycobacteria* in macrophages is mediated by coronin-1-dependent activation of calcineurin. *Cell*. 2007 ; 130 : 37-50.
- 15) Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al.: Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell*. 2004 ; 119 : 753-766.
- 16) Schmid D, and Munz C.: Innate and adaptive immunity

- through autophagy. *Immunity* 2007 ; 27 : 11–21.
- 17) Sly LM, Hingley-Wilson SM, Reiner NE, et al.: Survival of *Mycobacterium tuberculosis* in host macrophages involves resistance to apoptosis dependent upon induction of antiapoptotic Bcl-2 family member Mcl-1. *J Immunol.* 2003 ; 170 : 430–437.
 - 18) Spira A, Carroll JD, Liu G, et al.: Apoptosis genes in human alveolar macrophages infected with virulent or attenuated *Mycobacterium tuberculosis*: A pivotal role for tumor necrosis factor. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003 ; 29 : 545–551.
 - 19) Wayne LG, Sohaskey CD: Nonreplicating persistence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Annu Rev Microbiol.* 2001 ; 55 : 139–163.
 - 20) McKinney JD, Zu Bentrup KH, Murioz-Elias EJ, et al.: Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in macrophages and mice requires the glyoxylate shunt enzyme isocitrate lyase. *Nature.* 2000 ; 406 : 735–738.
 - 21) Kaku T, Kawamura I, Uchiyama R, et al.: RD1 region in mycobacterial genome is involved in the induction of necrosis in infected RAW264 cells via mitochondrial membrane damage and ATP depletion. *FEMS Microbiol Lett.* 2007 ; 274 : 189–195.
 - 22) Uchiyama R, Kawamura I, Fujimura T, et al.: Involvement of caspase-9 in the inhibition of necrosis of RAW 264 cells infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 2007 ; 75 : 2894–2902.
 - 23) Lopez M, Sly LM, Luu Y, et al.: The 19-kDa *Mycobacterium tuberculosis* protein induces macrophage apoptosis through Toll-like receptor-2. *J Immunol.* 2003 ; 170 : 2409–2416.
 - 24) Xu Y, Jagannath C, Liu X-D, et al.: Toll-like receptor 4 is a sensor for autophagy associated with innate immunity. *Immunity.* 2007 ; 27 : 135–144.
 - 25) Means TK, Wang S, Lien E, et al.: Human Toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol.* 1999 ; 163 : 3920–3927.
 - 26) Ishikawa E, Ishikawa T, Morita YS, et al.: Direct recognition of the mycobacterial glycolipid, trehalose dimycolate, by C-type lectin Mincle. *J Exp Med.* 2009 ; 206 : 2879–2888.
 - 27) 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. *Nature Immunol.* 2007 ; 8 : 369–377.
 - 28) Lockhart E, Green AM, Flynn JL: IL-17 production is dominated by $\gamma\delta$ T cells rather than CD4 T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol.* 2006 ; 177 : 4662–4669.
 - 29) Umemura M, Yahagi A, Hamada S, et al.: IL-17-mediated regulation of innate and acquired immune response against pulmonary *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin infection. *J Immunol.* 2007 ; 178 : 3786–3796.
 - 30) Wolf AJ, Linas B, Trevejo-Nunez GJ, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* infects dendritic cells with high frequency and impairs their function *in vivo*. *J Immunol.* 2007 ; 179 : 2509–2519.
 - 31) Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, et al.: An antibacterial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science.* 1998 ; 282 : 121–125.
 - 32) Schaible UE, Kaufmann SHE: CD1 and CD1-restricted T cells in infections with intracellular bacteria. *Trend Microbiol.* 2000 ; 8 : 419–425.
 - 33) 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. *Nature Immunol.* 2007 ; 8 : 369–377.
 - 34) Wolf AJ, Linas B, Trevejo-Nunez GJ, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* infects dendritic cells with high frequency and impairs their function *in vivo*. *J Immunol.* 2007 ; 179 : 2509–2519.
 - 35) Tang Q, Adams JY, Tooley AJ, et al.: Visualizing regulatory T cell control of autoimmune responses in nonobese diabetic mice. *Nat Immunol.* 2006 ; 7 : 83–92.
 - 36) Miyara M, Sakaguchi S: Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med.* 2007 ; 13 : 108–116.
 - 37) Mueller S, Hosiawa-Meagher K, Konieczny B, et al.: Regulation of homeostatic chemokine expression and cell trafficking during immune responses. *Science.* 2007 ; 317 : 670–674.
 - 38) von Garnier C, Filgueira L, Wikstrom M, et al.: Anatomical location determines the distribution and function of dendritic cells and other APCs in the respiratory tract. *J Immunol.* 2005 ; 175 : 1609–1618.
 - 39) Kursar M, Koch M, Mittrucker H-W, et al.: Regulatory T cells prevent efficient clearance of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol.* 2007 ; 178 : 2661–2665.
 - 40) Chen X, Zhou B, Li M, et al.: CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells suppress *Mycobacterium tuberculosis* immunity in patients with active disease. *Clin Immunol.* 2007 ; 123 : 50–59.
 - 41) Li L, Lao SH, Wu CY: Increased frequency of CD4⁺CD25⁺ high Treg cells inhibit BCG-specific induction of IFN- γ by CD4⁺ T cells from TB patients. *Tuberculosis.* 2007 ; 87 : 526–534.
 - 42) Garg A, Barnes PF, Roy S, et al.: Mannose-capped lipopolysaccharide and prostaglandin E2-dependent expansion of regulatory T cells in human *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur J Immunol.* 2008 ; 38 : 459–469.
 - 43) Ordway D, Henao-Tamayo M, Harton M, et al.: The hypervirulent *Mycobacterium tuberculosis* strain HN878 induces a potent TH1 response followed by rapid down-regulation. *J Immunol.* 2007 ; 179 : 522–531.
 - 44) Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al.: PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008 ; 26 : 677–704.
 - 45) Jurado JO, Alvarez IB, Pasquinelli V, et al.: Programmed death (PD)-1: PD-ligand 1/PD-ligand 2 pathway inhibits T cell effector functions during human tuberculosis. *J*

- Immunol. 2008 ; 181 : 116–125.
- 46) Kahnert A, Seiler P, Stein M, et al.: Alternative activation deprives macrophages of a coordinated defense program to *Mycobacterium tuberculosis*. Eur J Immunol. 2006 ; 36 : 631–647.
- 47) Lung TL, Sauwein-Teissl M, Parson W, et al.: Unimpaired dendritic cells can be derived from monocytes in old age and can mobilize residual function in senescent T cells. Vaccine. 2000 ; 18 : 1606–612.
- 48) Miller RA: Effect of aging on T lymphocyte activation. Vaccine. 2000 ; 18 : 1654–1660.
- 49) Vallejo AN, Nestel AR, Schirmer M, et al.: Aging-related deficiency of CD28 expression in CD4⁺ T cells is associated with the loss of gene-specific nuclear factor binding activity. J Biol Chem. 1998 ; 273 : 8119–8129.
- 50) Turner J, Orme IM: Identification of altered integrin α/β chain expression on T cells from old mice infected with *Mycobacterium tuberculosis*. Exp Gerontol. 2002 ; 37 : 907–916.

Current Topics

PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Ikuo KAWAMURA

Abstract *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) is an intracellular pathogen that has evolved strategies to enable growth in macrophages. The bacterium is able to inhibit fusion of phagosome with lysosome through secretion of some bacterial components and modulation of host cell intracellular signaling pathways. On the other hand, the complex system of protective immunity is expressed to control bacterial burden in host upon MTB infection. However, virulent MTB is capable of surviving in macrophages *in vivo* and persists in host even after acquired immunity has developed. These data suggest that MTB has developed a sophisticated immune evasion mechanism. In this issue, host protective response and the strategies of MTB for intracellular survival and immune evasion, which have been unraveled so far, are shown and the mechanisms are

discussed.

Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, Macrophage, Phagolysosome, Apoptosis, Necrosis, Cytokine, CD4⁺ T cell, CD8⁺ T cell, $\gamma\delta$ T cell

Department of Microbiology, Kyoto University Graduate School of Medicine

Correspondence to: Ikuo Kawamura, Department of Microbiology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Yoshidakonocho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606–8501 Japan. (E-mail: ikuo_kawamura@mb.med.kyoto-u.ac.jp)