

M1, M2 マクロファージポピュレーション

— 抗酸菌感染で誘導・活性化されるマクロファージとの関連から —

^{1,2}富岡 治明 ³多田納 豊 ²佐野 千晶 ⁴清水 利朗

要旨：病原菌，特に細胞内寄生菌や原虫の感染宿主では，感染症の遷延化と重症化に伴い，免疫抑制性マクロファージが誘導されてくることが知られている。この免疫抑制性マクロファージは，T細胞やB細胞などのリンパ球の増殖やサイトカイン産生能などの細胞機能を抑制するいわゆるサプレッサー活性を示すが，この免疫抑制性マクロファージが単一の細胞集団で構成されているのか，あるいは複数のポピュレーションから成るのかについては不明な点が多い。そして，実際にサプレッサー活性を発揮するマクロファージがどのようなタイプの細胞なのかについてもはっきりしたことは分かっていない。本稿では，こうした問題との関連から，マクロファージのclassically activated macrophage（別名：M1マクロファージ）と呼ばれるポピュレーションと，alternatively activated macrophage（別名：M2マクロファージ）と呼ばれるポピュレーションへの分極化（polarization）に関して，それら2つのタイプのマクロファージの性状と細胞機能を中心に抗酸菌感染との関連を含めて概説した。また，著者らの最近の研究で，*Mycobacterium avium* complex感染でマウスの脾細胞中に誘導される免疫抑制性マクロファージは，Th17細胞を強く誘導するが，興味深いことに，このマクロファージはM1マクロファージにもM2マクロファージのどちらのポピュレーションにも属さない新しいタイプのマクロファージであることが明らかになった。本総説では，この知見についても紹介する。

キーワード：M1マクロファージ，M2マクロファージ，免疫抑制性マクロファージ，Th17細胞，抗酸菌感染症

はじめに

*Salmonella*や*Listeria*などの通性細胞内寄生菌に感染した宿主では，マクロファージの分極化（polarization）が起こることが知られている。最近のマクロファージでの遺伝子発現のプロファイリング研究によって，種々の細菌感染によっていわゆる「classically activated macrophage，別名M1マクロファージ/M1様マクロファージ」と呼ばれる一群のマクロファージポピュレーションへの分極化に共通した遺伝子発現のパターンがあることが明らかになっている¹⁾。こうしたM1マクロファージは炎症性サイトカインを強く発現し抗菌活性も強い。しかしながら，感染宿主において過剰な形でのM1マクロファ

ージへの分極化が長期に持続すると，それに伴い組織傷害を中心とした病態形成が招来される。そうした宿主にとって危険な状態を回避するために，抗炎症・免疫抑制機能をもったいわゆる「alternatively activated macrophage (AAM)，別名M2マクロファージ/M2様マクロファージ」と呼ばれるポピュレーションが誘導され，抗炎症性メディエーターを産生して，組織損傷反応の終息とその後に引き続く組織修復に乗り出すことになる^{1)~3)}。本稿では，こうした2つのマクロファージポピュレーションの性状と機能について，細菌感染宿主で誘導される免疫抑制性マクロファージとの関連で概説するとともに，著者らが近年の研究で見いだしたTh17細胞の誘導能を有するM1マクロファージやM2マクロファージとは区別

¹⁾安田女子大学看護学部看護医療学，²⁾島根大学医学部微生物免疫学，³⁾国際医療福祉大学薬学科，⁴⁾安田女子大学管理栄養学科

連絡先：富岡治明，安田女子大学看護学部看護医療学，〒731-0153 広島県広島市安佐南区安東6-13-1

(E-mail: tomioka@yasuda-u.ac.jp)

(Received 3 Oct. 2015/Accepted 1 Dec. 2015)

Table Profiles of M1 and M2 macrophages^{a)}

Protein/molecule	Expression/Production profile	
	M1 macrophage	M2 macrophage ^{b)}
Batf2 ^{c)}	+++	-
MHC-II	+	-*
CD86 (B7-2)	+	-*
Fizz1	-	++ (M2a)
Ym1	-	++ (M2a)
Galectin-3	+	++ (M2a, M2c)
iNOS	++	-*
IPD	+++	+
Cyclooxygenase-2	++	-(M2a)
Arginase1	-	++ (M2a, M2c)
Cyclooxygenase-1	+	++ (M2a)
Mannose receptor	+	+++ (M2a, M2c)
Scavenger receptor	-	+(M2c)
Galactose-type receptor	-	+
IL-1 β	++	-*
IL-6	++	-*
IL-12	++	-
IL-23	++	-
TNF- α	++	-*
Type I IFN	++	-
IL-10	-	++ (M2b)
TGF- β	-	+(M2c)
IL-1ra	+	++ (M2a, M2c)
IL-1R1	++	+
IL-2R α	++	+(M2a)
IL-7R	++	+(M2a)
IL-15R α	++	+(M2a)
FcR	++	+
TLR2, TLR4	++	+
TLR5	+	++ (M2a)
CD14	+	++ (M2c)
CCL2, 5, 15, 19	+++	+(M2a)
CXCL9, 10, 11, 16	+++	+
CCL1	-	++ (M2b)
CCL13, 17, 18, 22, 23, 24	+	++ (M2a)
CCR7	+++	-
CCR2	+	++ (M2c)
CXCR4	+	++ (M2a)
RNI	++	-*
ROI	++	-*
Polyamine	-	++ (M2a, M2c)

a) Previous findings described in the following papers are summarized: in References [1, 3, 5, 8, 11, 13, 14, 17, 19, 20, 23, 25, 27].

b) M2 subtypes showing notably intense expression of the listed protein are indicated in a parenthesis. Asterisk (*) means that the expression of the indicated protein is exceptionally positive in macrophages belonging to M2b subtype.

c) Abbreviations used: Batf2, basic leucine zipper transcription factor 2; Fizz1, cysteine-rich secreted protein FIZZ1 found in inflammatory zone (resistin-like molecules-a); Ym1, M2-associated chitinase-like protein; iNOS, inducible nitric oxide synthase; IPD, indoleamine-pyrrole 2, 3 dioxygenase; IL-1ra, IL-1 receptor antagonist; IL-1R, IL-1 receptor; FcR, Fc receptor; TLR, Toll-like receptor; RNI, reactive nitrogen intermediates; ROI, reactive oxygen intermediates.

される形質を備えた免疫抑制性マクロファージポピュレーションについても紹介したい。

M1マクロファージとM2マクロファージの性状と機能

サイトカインや細菌の刺激性成分などによる細胞外からのいろいろなシグナルにตอบสนองして、マクロファージはそのシグナルに応じた形で分極化し特異的な機能発現を行うようになる^{1)~5)}。そうした分極化マクロファージについては、現在のところM1マクロファージとM2マクロファージと呼ばれる主に2つのタイプのポピュレーションが知られている。Tableに示すように、M1マクロファージはIFN- γ 単独あるいはIFN- γ と他のサイトカイン(TNF- α , GM-CSFなど)や細菌成分(LPSなど)との協同作用で誘導される³⁾⁴⁾。それに対して、Th2細胞が産生するIL-4やIL-13などのサイトカインはM2マクロファージの誘導(M2マクロファージへの分極化)に働くことが知られている³⁾⁴⁾。なおM2マクロファージには、さらにM2a, M2b, M2cの3つのポピュレーションが存在するとの報告があり、M2aマクロファージ(狭義のAAM)はIL-4やIL-13で誘導され、M2bマクロファージ(別名: Type II-activated macrophage)は免疫複合体によるFcレセプターを介したシグナルで誘導され、さらにM2cマクロファージ(別名regulatory macrophage/deactivated macrophage)はIL-10や糖質コルチコイドホルモン(GC)によって誘導されるとされている^{1)5)~8)}。その後、adenosine A_{2A} receptorとTLR2, 4, 7, 9を介する刺激で誘導されるM2タイプのマクロファージ(M2dマクロファージ)が報告されており、このマクロファージはvascular endothelial growth factor (VEGF), IL-10, 誘導型nitric oxide合成酵素(iNOS)発現が強く、この点で他のM2マクロファージからは区別されるという⁹⁾¹⁰⁾。もっとも、こうした考え方については異論も多く、最近、Murrayをはじめとする多くの研究者が、マクロファージの活性化と分極化についての意見交換を行い、様々なマクロファージポピュレーションに関する命名と実験法に関するガイドラインを提唱している¹¹⁾。この提言では、最初にM1, M2マクロファージの概念を提唱したMillsらがその根拠とする「M1, M2マクロファージではアルギニン代謝が異なっており、C57BL/6で誘導されやすいiNOS発現が優位なM1マクロファージではnitric oxide (NO)産生による細胞障害性が特徴的なものに対して、他方、Balb/cマウスで誘導されやすいarginase発現が優位なM2のマクロファージではオルニチン産生による細胞増殖・組織修復機能が特徴的である」という仮説の根拠となったM1, M2分極化におけるアルギニン代謝の重要性を示唆する実験成績¹²⁾¹³⁾に触れ、Millsらが用いたC57BL/6マウスでは、

もともと arginine transporter をコードする *Slc7a2* 遺伝子のプロモーター変異があるが、対照として用いた Balb/c マウスではそのような変異が存在せず、こうしたことがこれら2つの系統マウス間のアルギニン代謝の差異の原因となっている問題点を指摘している¹¹⁾。Murray らの提言では、マクロファージポピュレーションの呼称においては、M (IL-4), M (Ig), M (IL-10), M (GC), M (IFN- γ), M (LPS) など (括弧内は、マクロファージの誘導のための stimulant) のように、マクロファージ活性化のための条件を明確にすべきであり、M2a, M2b, M2c や制御性マクロファージなどのように理解を複雑化するような呼称は好ましくないとしており、さらにマクロファージマーカーについては、単独では使用せず、数種のマーカーの組み合わせを採用すべきとしている¹¹⁾。これに対して、Mills はマクロファージポピュレーションの分類は、そのようなマーカーではなく、マクロファージの機能をベースにすべきであると譲らない¹²⁾。なお、自然免疫や獲得免疫系での炎症反応を制御する役割を担う制御性マクロファージ (regulatory macrophage) の存在が提唱されており、この制御性マクロファージはM2マクロファージと同様にIL-10の発現が高レベルであり、その誘導にはIL-4/IL-13に加えてIFN- γ の関わりが必須であると報告されているが¹⁴⁾、Murray らの提言では否定的である¹¹⁾。なお最近、prostaglandin E₂ (PGE₂) や arginase 2 をエフェクターとして免疫応答を抑制的に制御する Foxp3⁺ 制御性マクロファージの存在が提唱されている^{14) 15)}。

以上の問題はさておき、M1マクロファージの誘導に関わるマクロファージの classical activation においては、炎症性サイトカインによる刺激に応答しての転写因子 NF- κ B に関連したシグナル伝達系の関わりが重要である。また、転写因子 IRF-5 は、IL-12 や炎症性サイトカインをコードしている遺伝子群の発現増強に働き、IL-10 遺伝子の発現は逆に抑制する方向で作用することで、M1マクロファージの誘導・分極化に関わっている¹⁶⁾。他方、M2マクロファージの誘導には、ロイシンジッパー転写因子 c-Maf や、炭水化物結合レクチン galectin-3 が重要な役割を演じており、IKK β は、STAT-1 シグナル伝達系の阻害を介してM1マクロファージの形質発現を抑制する。ところで、M1, M2分極化に関連して、Verreck らは、ヒト単球はGM-CSFとM-CSFの刺激 (各CSF添加培地で6日間培養) で各々M1マクロファージとM2マクロファージに共通した性状を有するマクロファージに分化することを報告しており、それぞれマクロファージ1 (TNF- α , IL-12, IL-23, IL-1 β , IL-18, IL-6発現陽性)、マクロファージ2 (IL-10発現陽性) と名付けている¹⁷⁾。また Fleetwood らは、骨髓前駆細胞からGM-CSFあるいはM-CSF刺激で誘導される骨髓由来マクロファージ (BMM) の形質比

較を行ったところ、前者 (GM-BMM) はTNF- α , IL-12, IL-23の発現が陽性であり、一方、後者 (いわゆるBMMで多くの研究でマクロファージとして使われている) はIL-10, CCL2発現が陽性であることを見いだしており、各々M1, M2マクロファージに相当するとしている¹⁸⁾。ところが、Murray らは、それらのマクロファージポピュレーションをM1, M2マクロファージに属するものと確定するには証拠が不足していると述べている¹¹⁾。

一般的には、M1マクロファージとM2マクロファージポピュレーションは、Tableに示すように、互いに異なった遺伝子発現プロフィールを示し異なった形質を有している^{8) 19) 20)}。まず、典型的なM1マクロファージは、IL-12, IL-23の高レベルの発現とIL-10の低レベルの発現が特徴的であり、細胞毒性の発現に関わる活性酸素分子種 (ROI) や活性酸化窒素分子種 (RNI)、さらにはIL-1 β , TNF- α , IL-6などの炎症性サイトカインを高レベルで産生する。従って、M1マクロファージはTh1応答の誘導、ひいては細胞内寄生性病原体や腫瘍に対する生体の防御機構を支える役割を果たしている^{4) 5)}。これに対して、M2マクロファージはIL-12やIL-23の発現レベルが低く、逆にIL-10の発現レベルが高いことから、Th2タイプの免疫偏向の成立に寄与しているものと考えられる。さらにM2マクロファージでは、arginase 1 (Arg1) の高発現に起因したアルギニン代謝のオルニチン産生系へのシフトと scavenger receptor の高レベル発現が特徴的である^{4) 5)}。加えて、M1マクロファージとM2マクロファージとでは、ケモカインやケモカインレセプターの発現プロフィールにも大きな違いが見られる (Table)。なおMurray らの提言では好ましい呼称ではないと指摘されているが¹¹⁾、M2aマクロファージに代表される alternatively activated macrophage (AAM) では、一般的にTNF- α やIL-6などの炎症性サイトカインの発現レベルが低いがArg1やFizz1の発現が強い。これに対して、M2bマクロファージ (Type II-activated macrophage) では、M1マクロファージ (IL-10陰性) やM2aマクロファージ (IL-10中等度陽性) と異なりIL-10の発現が高レベルであるが、他方、IL-12の発現はM2aマクロファージと同様に低レベルである^{3) 6) 7)}。さらに、M2bマクロファージでは、M1マクロファージと同様にiNOSやCD86の発現レベルが高いのに対して、Arg1の発現は低レベルであり、総じてM1マクロファージとM2マクロファージの中間型の形質を有していると報告されている^{7) 8) 11)}。

以上、M2マクロファージの基本的な特徴としては、①腫瘍組織中に集積しており腫瘍の増生、障害組織の修復、再構築に働く、②免疫調節作用と抗炎症作用を発揮する、③M1マクロファージの増殖・分極化に対して抑制的に作用することなどが知られている⁴⁾。ところで、マ

クロファージの分極化に関しては、以下のように、単球由来マクロファージ (MDM) と組織定常マクロファージ (TRM) との関係での興味深い議論がある²⁰⁾²¹⁾。第一は、M1マクロファージはLy6C⁺単球やLy6C⁺MDMから分極化するのに対して、M2マクロファージはTRMやLy6C⁻単球から分極化する、第二は、炎症部位に集積した単球が、浸潤早期にはM1マクロファージ、後期にはM2マクロファージに分極化する、第三は、様々な条件下で、M1、M2マクロファージは互いに転換可能であるという仮説である。加えて、TRMは基本的にはM2マクロファージの性質を有するのに対して、MDMは組織中での微小環境や条件に応じてM1、M2マクロファージのいずれのポピュレーションにも分極化可能であるという考え方もある。このこととの関連で、最近、GundraらはMDMとTRMをIL-4シグナルで刺激した場合、①いずれもArg1⁺、Ym1 (chi3l3)⁺、Fizz1 (Retnla)⁺のAAMに分極化するが、②MDMの場合はIL-4刺激によりRaldh2⁺、PD-L2⁺の形質を有しFoxp3⁺Treg細胞の分化を増強する機能を示すAAMに分極化するのに対して、他方、③TRMの場合はIL-4刺激によりRaldh2⁻、PD-L2⁻、Ucp1⁺の形質を有するAAMに分極化する、さらに、④これらの形質発現の増強は、マクロファージのalternative activationに介在するSTAT6に依存したものであることを見いだしている²²⁾。

M1、M2マクロファージの*in vivo*での役割に関しては、以下のように考えられている。すなわち、組織への感染や組織の損傷の後に最初に応答して集積するM1マクロファージは、TNF- α 、IL-1、RNI、ROIなどの炎症メディエーターを産生し強力な抗菌活性を発揮する²³⁾。このM1マクロファージは同時にIL-12やIL-23を産生し、Th1細胞やTh17細胞を誘導する。このように、M1マクロファージは、急性感染の状態にある宿主の感染防御に重要である。しかしながら、M1マクロファージにより産生されるRNIやROIなどのラジカルは、強い細胞毒性を示し近隣の組織に傷害をもたらすことになる。従って、こうした過剰な組織傷害反応を軽減し終息させるべく何らかの制御が必要になるが、このためには強力な抗炎症作用を発揮するM2マクロファージを誘導することが有効な手段となる。加えて、M2マクロファージはTGF- β や血小板由来増殖因子などの増殖因子の機能発現を介して、創傷治癒に重要な役割を演じることになる²⁴⁾。このようにマクロファージは状況に適應し、炎症性で殺菌性のM1マクロファージか、あるいは抗炎症性で組織修復性のM2マクロファージのいずれかに分極化し (マクロファージの分極化の切り替え)、その機能発現を行っている。

以上、マクロファージ分極化について概説したが、こ

の中で紹介した各種のマクロファージポピュレーションの性状に関する知見はヒトとマウスでの実験成績を基にしたものであり、全体的にはマウスマクロファージに関する報告が多いといえる¹¹⁾²³⁾。ヒトとマウスの各種マクロファージポピュレーションの性状は大方共通しているといえるが、動物種による明確な違いも報告されている。例えば、M2aマクロファージでのArg1、Ym1、Fizz1の強い発現は、マウスのマクロファージに限られた現象であり、ヒトのM2aマクロファージには当てはまらない²⁴⁾。またSchroderらによれば、マクロファージをTLR4を介するLPS刺激で活性化してM1マクロファージを誘導した場合、CCL20、CXCL13、IL-7R、indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)、P2X7、STAT4の発現増強はヒトでのみ認められ、逆にiNOS発現増強はマウスでのみ観察されるという²⁵⁾。さらにMartinezらは、IL-4刺激でM2aマクロファージを誘導した場合、mannose receptor (MRC1)、Krüppel-like factor 4 (KLF4)、transglutaminase 2 (TGM2)などの発現増強はヒト、マウスのいずれでも認められるが、transferrin receptor (TFRC)の明確な発現増強はマウスでのみ観察されると報告している²⁶⁾。最近、Spillerらにより、ヒトとマウスの系でのM (LPS, IFN) (M1)、M (IL-4, IL-13) (M2a)、M (IL-10) (M2c) マクロファージの誘導と活性化に連動した各種蛋白の遺伝子発現を網羅的に検討した成績が報告されているが、M1分極化に伴うCXCL10、CXCL11の発現増強はヒト、マウスのいずれでも認められるのに対して、M1分極化に伴うiNOSの発現増強はマウスの場合のみに、逆にCCR7の発現増強はヒトの場合のみに観察されることが示された²⁷⁾。加えて、彼らの成績では、M2a分極化に連動したCCL17、CCL22の発現増強はヒト、マウスのいずれでも認められるが、TGF- β 発現はヒトでは軽度に増強するが、マウスでは逆に大きく低下するという差異が観察されている²⁷⁾。以上のように、ヒトとマウスのマクロファージ分極化の様相は、基本的なところでは共通しているものの、かなり明確な違いもあることは確かであり、今後の詳細な比較研究が待たれるところである。

抗酸菌感染とマクロファージポピュレーション

結核菌、*Mycobacterium bovis* BCG株、百日咳菌、*Chlamydomyphila pneumoniae*、*Legionella pneumophila*などの感染で誘導されるマクロファージでは、M1分極化に特徴的な遺伝子群の発現がup-regulateされる。この遺伝子群には、①TNF- α 、IL-6、IL-12、IL-1 β などのサイトカイン、②IL-7レセプターやIL-15レセプターなどのサイトカインレセプター、③CCL2、CCL5、CXCL8などのケモカイン、および④ケモカインレセプター CCR7をコードする遺伝子が含まれる。他方、細菌感染宿主に誘導されるマ

クロファージのM2分極化に伴って特異的な発現誘導が明確に観察される遺伝子としては、わずかにIL-1raをコードする遺伝子が報告されているのみである¹⁾。ある種の病原細菌は、マクロファージのM1分極化を抑制するか、殺菌活性を減弱化させるか、あるいはM2分極化を促進するかといった能力をその進化の過程で獲得している。特に抗酸菌についてみると、以下のようなプロフィールを認めることができる。まず結核菌感染の早期には、宿主マクロファージのM1タイプへの分極化が明確な形で進行するが、この現象は活動性結核患者の臨床像とよく関連している。この結核菌感染により誘導されるM1マクロファージへの分極化という現象に関連して、Royらにより結核菌感染あるいはIFN- γ 刺激マクロファージではbasic leucine zipper transcription factor ATF-like 2 (Batf2) が強く発現することが報告されている²⁸⁾。このBatf2の発現は、M1マクロファージに特徴的であり、かつ結核菌に対する宿主抵抗性発現に重要な役割を演ずるiNOS, TNF- α , IL-12, CCL5 (RANTES) の発現に必須である。さらに、このBatf2を介する感染防御関連蛋白の発現増強にはIRF1の関わりが必須であるという成績が得られている。従って、Batf2は結核菌感染宿主における感染防御システムのベースとなる炎症応答の成立発現に重要な役割を演ずるものと考えられる。

一方、少数の結核患者ではM2タイプの分極化が認められることがあるが、化学療法の施行で病態が軽減した場合には、このM2分極化傾向は可逆的に抑えられることが知られており、マクロファージのM2分極化という現象が慢性結核症の進展と密な関係にあることを物語っている。例えば、結核菌感染に起因して、マクロファージのinfluxを特徴とする肺での炎症反応が惹起されるが、肺でのIFN- γ とIL-4の発現は肺胞マクロファージのM2分極化と関連している²⁹⁾。結核菌感染早期には、BAL中のIFN- γ レベルが上昇し、BAL中のマクロファージはiNOS陽性のM1マクロファージにシフトするが、炎症反応が持続し長期化するにつれて、BAL中のIL-4レベルの増加と、BALマクロファージによるArg1発現の増強に取って代わり、いわゆるBALマクロファージのM2分極化が認められてくる²⁹⁾。実際に、感染後7日から21日目までのBALマクロファージはArg1^{low}iNOS^{high}であるが、感染後35~60日目になると、M1タイプからM2タイプの分極化へのスイッチの切り替えが行われ、BALマクロファージはArg1^{high}iNOS^{low}といういわゆるM2タイプに転換していく²⁹⁾。これに関連して、Lopesらは、マウスの骨髄由来マクロファージ (BMM) を、元来免疫抑制作用が知られている結核菌のDnaK蛋白で処理すると、Arg1, IL-10, Fizz1, Ym1発現の増強が認められることを報告しており、DnaK蛋白はマクロファージをM2型に

分極化する作用を有するものと考えられる³⁰⁾。上述の感染後期におけるM1マクロファージからM2マクロファージへの分極化という現象を考えるうえで、興味深い知見である。

こうした問題との関連で、Itoらは以下のような興味深い成績を報告している³¹⁾。結核菌抗原で感作したマウスにツベルクリンを静脈内投与すると、TLR9欠損マウスの肺では、TLR9を正常に発現する対照マウスと異なり、好酸球の集積を伴う肉芽腫形成が特徴的なTh2タイプの免疫偏向が惹起される。この場合、TLR9欠損マウスの肺でのTh1サイトカイン発現の低下と、それに連動したTh2サイトカイン発現の増強がみられるが、TLR9欠損マウス肺のF4/80⁺マクロファージではM1マクロファージマーカーであるiNOS発現が低く、逆にM2マクロファージマーカーのArg1やFizz1の発現レベルが高い³¹⁾。こうした成績は、TLR9欠損マウスでは、肺マクロファージのM1タイプからM2タイプへのシフトが起こっていることを示しており、ひいてはTh1型の肉芽腫性反応が維持されるためにはTLR9の果たす役割が大きいことを物語っている。またTLRシグナルとM2マクロファージの分極化に関連して、Quallsらにより、*M. bovis* BCG株に感染したマクロファージはIL-6, IL-10, G-CSFなどのサイトカインの産生を介して、M2マクロファージに特徴的なArg1の発現を誘導することが報告されている³²⁾。この場合、Arg1の発現は、MyD88を介する活性化シグナルで誘導されるこれらのサイトカインの産生増強によってコントロールされていること、さらに、この抗酸菌感染に反応してのArg1の発現増強にはMyD88依存のシグナル伝達系が関わっており、このシグナル伝達系にはSTAT3経路が介在していることが明らかになっている³²⁾。また、マクロファージのM2分極化に関連してLiaoらは、Krüppel-like factor 4 (KLF4) 蛋白がマクロファージ分極化の決定的な制御因子として働くことを報告しているが、KLF4はM1マクロファージの誘導には抑制的に、M2マクロファージの誘導には促進的に作用している³³⁾。このメカニズムとして、KLF4はSTAT6との協同作用でM2分極化の成立に働くが、他方、KLF4はNF- κ Bの活性化に必要な補助因子の作用を阻害することによりM1分極化をブロックすることが明らかにされた³³⁾。従って、KLF4は、galectin 3のようなM2aマクロファージとM2cマクロファージに特徴的に発現する転写調節因子と同様に、M2マクロファージに特異的な制御因子であると考えられる。

最近、マクロファージのM2分極化に関連して、興味深い知見が報告されている。すなわち、Gulerらにより結核菌感染に対する宿主感染防御系に対して抑制的に働くM2マクロファージの誘導には、IL-4受容体 (IL-4R α)

を介するシグナルに依存した alternative activation は関与していないという成績が報告されている³⁴⁾。実際に、マクロファージの IL-4 受容体を欠損させたマウスのマクロファージでも、結核菌感染18週後には Arg1 発現が陽性になってくるという。従って、宿主の感染防御能の発現を down-regulate するような M2 マクロファージは、IL-4/IL-13 以外のシグナルによっても誘導されるものと考えられる。そういう意味では、Murray らの提言での M (IL-4), M (Ig), M (IL-10), M (GC), M (IFN- γ), M (LPS)¹¹⁾ や Mantovani をはじめとする研究者らの総説⁵⁾⁷⁾⁸⁾ に代表される M2b, M2c マクロファージといったマクロファージポピュレーションの存在は認められて然るべきものと思われる。

免疫抑制性マクロファージとマクロファージポピュレーション

著者らは、抗酸菌、特に *Mycobacterium avium complex* 感染マウスの脾細胞中に誘導される免疫抑制性マクロファージ (MAC マクロファージ) についての一連の研究を進めてきているが、このサブレッサーマクロファージは、標的 T 細胞との cell-to-cell contact を介しての抑制性シグナル伝達、さらには TGF- β , RNI, PGE₂ などの液性因子をメディエーターとして、T 細胞の TCR 刺激に対する増殖性応答、IL-2 レセプター発現、ならびに IL-2 産生に対する抑制作用を示す³⁵⁾。著者らの最近の検討で、MAC マクロファージは、IL-6, TGF- β , 抗 IFN- γ 抗体、抗 IL-4 抗体を添加した培養系で、正常マウスの脾 T 細胞から Th17 細胞を強く誘導することが明らかになったが、M1, M2 分極化との関連で、MAC マクロファージにおけるサブレッサー活性を發揮するマクロファージポピュレーションと Th17 誘導に働くマクロファージポピュレーションが同じ分極化プロフィールを有するのか否か、さらに、MAC マクロファージが互いに異なった分極化状態にある複数のマクロファージポピュレーションから成るとした場合には、M1 および M2 のいずれのタイプのマクロファージが各々サブレッサー活性あるいは Th17 誘導活性を有しているのかについて検討を進めてみた。その結果、以下のような興味深い成績が得られた³⁶⁾。すなわち、① MAC マクロファージは、T 細胞と混合培養した場合、Th17 細胞の分化誘導を up-regulate し、IL-17 や IL-22 の産生を強く増強する、② この現象は、MAC マクロファージポピュレーション中のユニークな形質 (IL-12⁺, IL-1 β ^{high}, IL-6⁺, TNF- α ⁺, iNOS⁺, CCR7^{high}, IL-10^{high}, Arg1⁻, mannose receptor^{low}, Ym1^{high}, Fizz^{low}, CD163^{high}) を有するマクロファージ、すなわち M17 マクロファージと呼称することも可能と考えられる新しいタイプのマクロファージによって担われている、③ このユニークな

M17 型マクロファージの Th17 分化誘導活性は、IL-6 や TGF- β に依存しているが、他方、IL-21 や IL-23 への依存性は認められない、④ この M17 型マクロファージは、*in vivo* の系では、MAC 感染マウスの脾細胞中に誘導されており、TCR を介するシグナリングに応答しての T 細胞のマイトジェネシスを強く抑制するとともに、Th17 細胞への分化を誘導することなどが明らかになった。以上の成績は、MAC 感染で誘導されてくるサブレッサーマクロファージの主要なポピュレーションは、M1, M2 マクロファージ中間型の形質を有する新しいタイプの細胞であり、このものは、サブレッサー活性と同時に Th17 細胞の expansion を誘導する機能をも有するというを示している。付言するに、このマクロファージポピュレーションは、ある面 M2b マクロファージに類似した形質を有しており、その範疇に入るものなのかもしれない。

終わりに

この総説では、抗酸菌感染によって誘導されるマクロファージについて、M1, M2 マクロファージを中心とする様々なポピュレーションとの関連から概説したが、特にサブレッサーマクロファージとの関係で以下に著者らの見解を述べたい。いわゆる免疫抑制性 (サブレッサー) マクロファージと呼ばれるポピュレーションと M2 マクロファージとでは、確かに機能面での共通性が存在することが知られている。事実、未成熟の骨髄性サブレッサー細胞は M2 マクロファージに特徴的な機能および転写特性を有している³⁷⁾。しかしながら、M1 マクロファージもまた、活性酸化窒素、TGF- β , PGE₂ などの免疫抑制メディエーターの産生を介して T 細胞や B 細胞などのリンパ球に対してサブレッサー活性を發揮することが知られており、M1 マクロファージの中にも、サブレッサーマクロファージと呼べるようなポピュレーションが存在することは否定できない。今回、著者らの研究で見いだされた M17 型マクロファージを含めて、マクロファージポピュレーションとサブレッサーマクロファージとの関係について詳細な検討が進められることを期待したい。

著者の COI (conflicts of interest) 開示: 本論文発表内容に関して特になし。

文 献

- 1) Benoit M, Desnues B, Mege JL: Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol.* 2008; 181: 3733-3739.
- 2) Murray PJ, Wynn TA: Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11: 723-737.

- 3) Mosser DM, Edwards JP: Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol.* 2008 ; 8 : 958–969.
- 4) Gordon S: Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003 ; 3 : 23–35.
- 5) Mantovani A, Sica A, Sozzani, et al.: The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* 2004 ; 25 : 677–686.
- 6) Gerber JS, Mosser DM: Reversing lipopolysaccharide toxicity by ligating macrophage Fc γ receptors. *J Immunol.* 2001 ; 166 : 6861–6868.
- 7) Edwards JP, Zhang X, Frauwirth KA, et al.: Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *J Leukoc Biol.* 2006 ; 80 : 1298–1307.
- 8) Martinez FO, Gordon S: The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* 2014 ; 6 : 13. doi: 10.12703/P6–13.
- 9) Grinberg S, Hasko G, Wu D, et al.: Suppression of PLC β 2 by endotoxin plays a role in the adenosine A_{2A} receptor-mediated switch of macrophages from an inflammatory to an angiogenic phenotype. *Am J Pathol.* 2009 ; 175 : 2439–2453.
- 10) Ferrante CJ, Pinal-Enfield G, Elson G, et al.: The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4R α) signaling. *Inflammation.* 2013 ; 36 : 921–931.
- 11) Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, et al.: Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity.* 2014 ; 41 : 14–20.
- 12) Mills CD: Anatomy of a discovery: M1 and M2 macrophages. *Front Immunol.* 2015 ; 6 : 212. doi: 10.3389/fimmu.2015.00212.
- 13) Muraille E, Leo O, Moser M: Th1/Th2 paradigm extended: macrophage polarization as an unappreciated pathogen-driven escape mechanism? *Front Immunol.* 2014 ; 5 : 603. doi: 10.3389/fimmu.2014.00603. eCollection 2014.
- 14) Cassetta L, Cassol E, Poli G: Macrophage polarization in health and disease. *Scientific World Journal.* 2011 ; 11 : 2391–2402.
- 15) Manrique SZ, Correa MA, Hoelzinger DB: Foxp3-positive macrophages display immunosuppressive properties and promote tumor growth. *J Exp Med.* 2011 ; 208 : 1485–1499.
- 16) Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, et al.: IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nat Immunol.* 2011 ; 12 : 231–238.
- 17) Verreck FA, de Boer T, Langenberg DM, et al.: Phenotypic and functional profiling of human proinflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and IFN- γ - and CD40L-mediated costimulation. *J Leukoc Biol.* 2006 ; 79 : 285–293.
- 18) Fleetwood AJ, Lawrence T, Hamilton JA, et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and macrophage CSF-dependent macrophage phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities: implications for CSF blockade in inflammation. *J Immunol.* 2007 ; 178 : 5245–5252.
- 19) Martinez FO, Gordon S, Locati M, et al.: Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *J Immunol.* 2006 ; 177 : 7303–7311.
- 20) Italiani P, Boraschi D: From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Front Immunol.* 2014 ; 5 : 514. doi: 10.3389/fimmu.2014.00514.
- 21) Jenkins SJ, Ruckerl D, Cook PC, et al.: Local macrophage proliferation, rather than recruitment from the blood, is a signature of Th2 inflammation. *Science.* 2011 ; 332 : 1284–1288.
- 22) Gundra UM, Girgis NM, Ruckerl D, et al.: Alternatively activated macrophages derived from monocytes and tissue macrophages are phenotypically and functionally distinct. *Blood.* 2014 ; 123 e110–22. doi: 10.1182/blood-2013-08-520619.
- 23) Colin S, Chinetti-Gbaguidi G, Staels B: Macrophage phenotypes in atherosclerosis. *Immunol Rev.* 2014 ; 262 : 153–166.
- 24) Mantovani A, Garlanda C, Locati M: Macrophage diversity and polarization in atherosclerosis: a question of balance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009 ; 29 : 1419–1423.
- 25) Schroder K, Irvine KM, Taylor MS, et al.: Conservation and divergence in Toll-like receptor 4-regulated gene expression in primary human versus mouse macrophages. *Proc Natl Acad Sci, USA.* 2012 ; 109 : E944–E953.
- 26) Martinez FO, Helming L, Milde R, et al.: Genetic programs expressed in resting and IL-4 alternatively activated mouse and human macrophages: similarities and differences. *Blood.* 2013 ; 121 : e57–e69.
- 27) Spiller KL, Wrona EA, Romero-Torres S, et al.: Differential gene expression in human, murine, and cell line-derived macrophages upon polarization. *Exp Cell Res.* 2015 ; pii : S0014-4827 (15) 30121-X. doi: 10.1016/j.yexcr.2015.10.017.
- 28) Roy S, Guler R, Parihar SP, et al.: Batf2/Irf1 induces inflammatory responses in classically activated macrophages, lipopolysaccharides, and mycobacterial infection. *J Immunol.* 2015 ; 194 : 6035–6044.
- 29) Redente EF, Higgins DM, Dwyer-Nield LD, et al.: Differential polarization of alveolar macrophages and bone marrow-derived monocytes following chemically and pathogen-induced chronic lung inflammation. *J Leukoc Biol.* 2010 ; 88 : 159–168.
- 30) Lopes RL, Borges TJ, Araújo JF, et al.: Extracellular mycobacterial DnaK polarizes macrophages to the M2-like phenotype. *PLoS One.* 2014 ; 9 : e113441. doi: 10.1371/journal.pone.0113441.
- 31) Ito T, Schaller M, Hogaboam CM, et al.: TLR9 activation is a key event for the maintenance of a mycobacterial antigen-elicited pulmonary granulomatous response. *Eur J Immunol.* 2007 ; 37 : 2847–2855.
- 32) Qualls JE, Neale G, Smith AM, et al.: Arginine usage in

- mycobacteria-infected macrophages depends on autocrine-paracrine cytokine signaling. *Sci Signal*. 2010 ; 3 (135) : ra62. doi: 10.1126/scisignal.2000955.
- 33) Liao X, Sharma N, Kapadia F, et al.: Krüppel-like factor 4 regulates macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2011 ; 121 : 2736–2749.
- 34) Guler R, Parihar SP, Savvi S, et al.: IL-4R α -dependent alternative activation of macrophages is not decisive for *Mycobacterium tuberculosis* pathology and bacterial burden in mice. *PLoS One*. 2015 ; 10 : e0121070. doi : 10.1371/journal.pone.0121070.
- 35) Tomioka H: Suppressor macrophages induced by mycobacterial infections. In: *Current Topics on the Profiles of Host Immunological Response to Mycobacterial Infections*, Tomioka H, ed., Research Signpost, Kerala, 2009, 251–280.
- 36) Tatano Y, Shimizu T, Tomioka H: Unique macrophages different from M1/M2 macrophages inhibit T cell mitogenesis while upregulating Th17 polarization. *Sci Rep*. 2014 ; 4 : 4146. doi: 10.1038/srep04146.
- 37) François M, Romieu-Mourez R, Li M, et al.: Human MSC suppression correlates with cytokine induction of indoleamine 2, 3-dioxygenase and bystander M2 macrophage differentiation. *Mol Ther*. 2012 ; 20 : 187–195.

————— Review Article —————

M1 AND M2 MACROPHAGE POPULATIONS:
THOSE INDUCED AND ACTIVATED BY MYCOBACTERIAL INFECTIONS

^{1,2}Haruaki TOMIOKA, ³Yutaka TATANO, ²Chiaki SANO, and ⁴Toshiaki SHIMIZU

Abstract In the advanced stages of mycobacterial infections, host immune systems tend to change from a Th1-type to Th2-type immune response, resulting in the abrogation of Th1 cell- and macrophage-mediated antimicrobial host protective immunity. Notably, this type of immune conversion is occasionally associated with the generation of certain types of suppressor macrophage populations. During the course of infections due to pathogenic mycobacteria, the generation of macrophages which possess strong suppressor activity against host T- and B-cell functions is frequently encountered. This review describes the immunological properties of M1- and M2-type macrophages generated in hosts with certain microbial infections including mycobacteriosis and those generated in tumor-bearing animals. Particularly, this paper highlights the immunological and molecular biological characteristics of M1 and M2 macrophage populations, which are induced by

mycobacterial infections.

Key words: M1 macrophage, M2 macrophage, Immunosuppressive macrophage, Th17 cell, Mycobacterial infection

¹Department of Basic Medical Science for Nursing, Yasuda Women's University, ²Department of Microbiology and Immunology, Shimane University School of Medicine, ³Department of Pharmaceutical Sciences, International University of Health and Welfare, ⁴Department of Nutrition Administration, Yasuda Women's University

Correspondence to: Haruaki Tomioka, Department of Basic Medical Science for Nursing, Yasuda Women's University, 6-13-1, Yasuhigashi, Asa-minami-ku, Hiroshima-shi, Hiroshima 731-0153 Japan. (E-mail: tomioka@yasuda-u.ac.jp)