

結核菌に対する生体防御におけるC型レクチン受容体の役割

大阪大学微生物病研究所分子免疫制御分野
石塚 茂宜, 山崎 晶

細菌や真菌, ウイルスなどの外来病原体は, 生体にとって言わば外敵であり, 宿主の生命を脅かすこともある。ゆえに生体はこれらの病原体をいち早く認識して排除する機構を有しており, この機構のことを自然免疫という。自然免疫において自己と非自己の識別は, パターン認識受容体と呼ばれるグループの受容体が担うが, これらは病原体が特異的にもつ構造を認識し, 免疫応答を惹起する。本寄稿では, このうち, われわれが解析を進めているC型レクチン受容体 (C-type lectin receptors: CLR) が結核菌に対する感染防御において担う機能と意義を概説したいと思う。

■結核菌脂質成分とC型レクチン受容体

結核菌が免疫賦活化能をもつことは古くから知られており, 結核菌を含むフロイントの完全アジュバント (complete Freund's adjuvant: CFA) は宿主の抗体産生を増強することがわかっていた¹。長年, この活性を担う具体的な成分は明らかになっていなかったが, 近年になって, 結核菌の細胞壁を構成する豊富な脂質成分が重要であることがわかってきた。われわれは結核菌の種々の糖脂質成分がCLRに認識され, 免疫応答を惹起することを見出してきた²。

■C型レクチン受容体のシグナル伝達

CLRは膜貫通型のタンパク質で, 細胞外領域に糖を認識する構造をもつのが特徴である。CLRのなかにはリガンドを認識すると, 活性化シグナルを伝達するITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) と呼ばれる特徴的なモチーフを介してシグナルを伝達するものがある。自身の分子内にはITAMをもたず, FcR γ と共役して活性化シグナルを伝達するものも存在する。ITAMからの活性化シグナルはアダプタータンパク質であるCard9に伝達され, その後Card9, Malt1, Bcl10が複合体を形成することで, NF- κ Bなどの転写因子の活性化を促進し, さらには細胞の活性化に至る³⁴。これらのCLRはそれぞれ異なる結核菌リガンドを認識することで免疫応答を誘導し, 結核菌に対する生体防御に関わる。そこで, 結核菌認識に関わる各CLRについてスポットライトを当てて見ていくことにする。

■Mincle

結核菌の細胞壁の表面に存在しているトレハロースジミコール酸 (trehalose 6,6'-dimycolate: TDM) はコードファク

ターとも呼ばれ, マウスに投与すると肉芽腫が形成されるなど, 免疫賦活化能を有することが古くから知られていたが, その認識受容体は長年不明であった。我々のグループは2009年に, マクロファージに発現するCLRであるMincle (macrophage-inducible C-type lectin) がTDMの受容体であることを報告した⁵。実際に, Mincle欠損マウス由来の骨髓由来マクロファージ (bone marrow-derived macrophages BMDM ϕ) をTDMで刺激すると, TNF- α , MIP2, さらに一酸化窒素NOの産生, 肉芽腫形成が消失する⁵。同時期にSchoenenらはTDMの合成アナログであるTDB (trehalose dibehenate) のアジュバント活性もまたMincleに依存することを報告している⁶。Mincleの一塩基置換 (single nucleotide polymorphism: SNP) は結核に対する感受性に相関しない⁷と報告されている一方, 西アフリカでの症例対照研究において, Mincleが肺結核の発症に関わる⁸という相対する報告がなされていることから, ヒトにおけるMincleの寄与についての詳細な解析が待たれる。

■MCL

Mincleと同じクラスター上に存在し, 相同性の高い分子にMCL (macrophage C-type lectin) がある。MCLはMincleや同じCLRに属するDectin-2 (dendritic cell-associated C-type lectin-2) とヘテロダイマーを形成することが報告されている。MCL欠損マウス由来の骨髓由来樹状細胞 (bone marrow-derived dendritic cells BMDC) では刺激によって誘導されるMincleの発現が減弱し, 逆にMCL過剰発現マウス由来の細胞ではMincleの発現が亢進することから, MCLはMincleの発現をポジティブに制御することが明らかとなった⁹。MCLはMincleの発現を誘導・安定化することで, 結核菌に対する感染防御に関わっていると考えられる。実際に, ヒトにおいてもMCLのSNPが肺結核や非結核性抗酸菌症の疾患感受性と相関することが報告されている¹⁰¹¹。

■Dectin-2

Dectin-2は真菌などの細胞壁に存在する高マンノース構造を認識するCLRであるが, 結核菌も細胞壁にマンノースを多価で結合しているLAM (lipoarabinomannan) を有しており, 特にマンノースキャップ型のLAMであるManLAMはDectin-2によって認識される¹²。BMDCをManLAMで刺激すると, TNF- α やMIP2が産生されるが, Dectin-2を欠

損するとこれらの産生は完全に消失する。Dectin-2によるMan-LAM認識では、炎症性サイトカインやケモカインの他にもT細胞の増殖を促進するIL2や抗炎症性サイトカインであるIL-10の産生が起こることが特徴的である。実際に、マウスに結核菌糖脂質を静脈から投与した実験では、前述のTDMでは肺の腫脹と肉芽腫の形成という炎症反応を呈したのに対して、Man-LAMでは過剰な炎症反応は認められなかった¹²。また、樹状細胞上の補助刺激分子発現を誘導し、T細胞の活性化を促進する¹²ことから、Man-LAMが新規ワクチンアジュバントの有力な候補であると言える。

■ DCAR

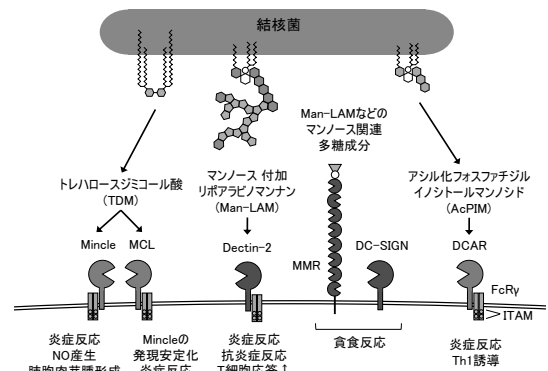
DCAR (dendritic cell immunostimulating receptor) はMincleやMCL, Dectin-2と同様のクラスター上にコードされている遺伝子の一つであり、結核菌細胞壁に豊富に存在するアシル化されたPIM (phosphatidylinositol mannoside) を認識する。DCARは腹腔や肺に存在する炎症性単球由来の細胞に発現している。DCARを欠損したマウスにBCGを感染させると、感染部位でのMCP1産生が減少し、それによって遊走されたと考えられるCCR2陽性の炎症性単球の割合が低下することが示されている¹³。DCAR欠損マウスでは、結核菌特異的な抗原に対するIFN- γ 産生が低下し、菌の排除も低下していたことから、DCARは結核菌に対するTh1応答を介して宿主防御に関わっていると考えられる¹³。

■ DC-SIGN, MMR

CLRsの中にはITAMのような既知のシグナル伝達モチーフを有さず、菌体の貪食に寄与するものがある。中でもDC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-3 grabbing non-integrin) やMMR (macrophage mannose receptor) はどちらもDectin-2と同様にMan-LAMなどの高マンノース構造を認識し、結核菌の貪食に関わる可能性が示唆されている^{14,15}。MMRはMan-LAMを認識し、ファゴソームとリソソームの融合を阻害することが示されている¹⁵。

このように、種々のCLRsは協調して結核菌を認識し、その後の免疫応答を惹起することが明らかになってきているが、結核菌には未だに受容体が明らかになっていないリガンドが存在する。PDIM (phthiocerol dimycocerosate) やPGL (phenolic glycolipid) がその中に含まれ、結核菌が有する免疫逃避機構の一つではないかとされている^{16,17}。PDIMはTLR (Toll-like receptor) リガンドをマスクすることで宿主の免疫応答から逃れる可能性が示唆されているが¹⁶、その一方でPGLはマウスBMM ϕ からの炎症性サイトカ

インの産生を抑制することから¹⁷、ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) を有する抑制性の免疫受容体との相互作用により、その機能を発揮している可能性もある。結核菌が有するリガンドやそれを認識する免疫受容体とその機能を明らかにすることによって、結核感染防御に関する、より詳細な分子機構を理解することが可能になるとともに、これらのCLRリガンドをアジュバントとしたワクチン開発に繋がるかもしれない。



図：結核菌を認識するC型レクチン受容体と、認識に伴う応答

参考文献：

- Opie EL & Freund J. AN EXPERIMENTAL STUDY OF PROTECTIVE INOCULATION WITH HEAT KILLED TUBERCLE BACILLI. *J Exp Med.* 60 (6) :761-88 (1937)
- Ishikawa E et al. Recognition of Mycobacterial Lipids by Immune Receptors. *Trends Immunol.* 38 (1) :66-76 (2017)
- Gross O et al. Card9 controls a non-TLR signaling pathway for innate anti-fungal immunity. *Nature.* 442:651-56 (2006)
- Hara H et al. The adaptor protein CARD9 is essential for the activation of myeloid cells through ITAM-associated and Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 8:619-29 (2007)
- Ishikawa E & Ishikawa T et al. Direct recognition of the mycobacterial glycolipid, trehalose dimycolate, by C-type lectin Mincle. *J Exp Med.* 206 (13) :2879-88 (2009)
- Schoenen H et al. Cutting Edge: Mincle Is Essential for Recognition and Adjuvanticity of the Mycobacterial Cord Factor and its Synthetic Analog Trehalose-Dibehenate. *J Immunol.* 184:2756-60 (2010)
- Bowker N et al. Polymorphisms in the Pattern Recognition Receptor Mincle Gene (CLEC4E) and Association with Tuberculosis. *Lung.* 194:763-7 (2016)
- Olvany JM et al. CLEC4E (Mincle) genetic variation associates with pulmonary tuberculosis in Guinea-Bissau (West Africa). *Infect. Genet. Evol.* 85:104560 (2020)
- Miyake Y et al. C-type Lectin MCL Is an Fc γ -Coupled Receptor that Mediates the Adjuvanticity of Mycobacterial Cord Factor. *Immunity.* 38:1050-62 (2013)
- Szymanski EP et al. Pulmonary Nontuberculosis Mycobacterial Infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 192 (5) :618-28 (2015)
- Wilson GJ et al. The C-type Lectin Receptor CLECSF8/CLEC4D Is a Key Component of Anti-Mycobacterial Immunity. *Cell Host Microbe* 17:252-9 (2015)
- Yonekawa A et al. Dectin-2 is a direct receptor for mannose-capped liparabinomannan of mycobacteria. *Immunity.* 41 (3) :402-13. (2014)
- Toyonaga K et al. C-type Lectin Receptor DCAR Recognizes Mycobacterial Phosphatidyl-Inositol Mannosides to Promote a Th1 Response during Infection. *Immunity.* 45 (6) :1245-57 (2016)
- Tailleux L et al. DC-SIGN Is the Major Mycobacterium tuberculosis Receptor on Human Dendritic Cells. *J Exp Med.* 197 (1) :121-7 (2003)
- Ernst JD. Macrophage Receptors for Mycobacterium tuberculosis. *Infect Immun.* 66 (4) :1277-81 (1998)
- Arbues A et al. Playing hide-and-seek with host macrophages through the use of mycobacterial cell envelope phthiocerol dimycocerosates and phenolic glycolipids. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4 (173) (2014)
- Reed MB et al. A glycolipid of hypervirulent tuberculosis strains that inhibits the innate immune responses. *Nature.* 431:84-7 (2004)