

NTM感染における NRF2 の役割

筑波大学附属病院呼吸器内科

病院講師 松山 政史



はじめに

肺非結核性抗酸菌 (NTM) 症の罹患率は世界的に増加している^(1,2)。現在の肺NTM症に対する抗生剤治療は十分な治療方法とは言えない。肺NTM症に対する有効な治療法を開発するためには、NTM感染に対する宿主防御機構を理解することが重要である。生体に微生物が感染すると、食細胞は過剰なオキシダントを産生し、病原体の除去に貢献するが、時に組織傷害を引き起こす⁽³⁾。したがって、酸化ストレスの制御は、感染時の重要な宿主防御機構の一つであると考えられる。Nuclear erythroid 2 p45-related factor-2 (NRF2) は、抗酸化・解毒遺伝子の発現を制御する酸化還元感受性の転写因子であり⁽⁴⁾、感染症においてもその保護的役割が証明されている。しかし、NTM感染症における NRF2 の役割に関する論文は多くない。そこで、本稿では、*Mycobacterium avium* (*M. avium*) または、*Mycobacterium abscessus* (*M. abscessus*) 感染症の病態における NRF2 の役割に焦点をあてて解説する。

酸化ストレスの制御における NRF2 の役割と抗酸化作用以外の役割について

微生物が体内に侵入すると、マクロファージ、好中球、樹状細胞などの炎症細胞によって検出、捕捉され、貪食される。病原体は、食細胞内の NADPH オキシダーゼ、特に NOX2 を活性化し、活性酸素種 (ROS) および活性窒素種 (RNS) の産生を増大させる^(5,6)。このプロセスは、病原体の除去に極めて重要であり、多くの感染症で生じている。酸化ストレスは、細胞内の酸化物質と抗酸化物質のバランスが崩れた結果として生じるものである。ROS や RNS などのフリーラジカルは非常に不安定で、生体高分子と反応し、DNA、タンパク質、脂質に損傷を与える。また、ROS は NF- κ B シグナル伝達経路を活性化し、細胞接着受容体、炎症性サイトカイン、ケモカインの発現を誘導し、フリーラジカルの生成と炎症の持続に関与している。酸化ストレスは細菌生物の増殖を抑制することが示されてきたが、*M. tuberculosis*, *M. abscessus*, *M. avium* などの一部の細

胞内細菌は、むしろ酸化的環境下に適応することも報告されている⁽⁷⁻⁹⁾。

一方で NRF2 は、酸化ストレス応答や薬物解毒に関わる遺伝子の発現を通じて、毒性および酸化的な刺激に対する細胞の防御を制御する転写因子である。酸化ストレスによる NRF2 の活性化のメカニズムは、分子レベルで解明されている。正常細胞の安静時では、NRF2 は細胞ストレスセンサータンパク質である Kelch-like ECH-associated protein-1 (KEAP1) と結合して細胞質に保持され、KEAP1 依存性のユビキチン化およびプロテアソーム分解系により減少したレベルで維持されている⁽¹⁰⁾。活性酸素種 (ROS) 存在下では、KEAP1 依存性のユビキチンリガーゼ活性が阻害され、NRF2 は核内に移動し、小MAF タンパク質とヘテロ二量体を形成して抗酸化剤応答配列 (Antioxidant Responsive Element ; ARE) に結合できる⁽¹¹⁾。

興味深いことに、抗酸化反応に加えて、NRF2 は他の多くの細胞プロセスに関与している。Türei らは、NRF2 に関する統合的なデータベースを提供するために、NRF2-ome というオンラインリソースを開発した⁽¹²⁾。このデータベースには、7,777 個のタンパク質と 35,967 個の相互作用が含まれており⁽¹²⁾、NRF2 が代謝リプログラミング、小胞体ストレス応答、プロテオスタシス、オートファジー、ミトコンドリア生合成、炎症、免疫に関連する多面的な転写因子として重要な役割を演じていることが報告されている⁽¹³⁻¹⁶⁾。

NTM 感染症における NRF2 の役割

NTM 感染症における NRF2 の役割については、あまり多くの報告がない。しかし、Bonay らは、*M. abscessus* に感染したヒト THP-1 由来マクロファージが活性酸素産生の増加と細胞のネクローシスを示したこと、*M. abscessus* 感染が NRF2 シグナル伝達経路の活性化を誘導することを示した。また、NRF2 の活性化剤であるスルフォラファン (SFN) でマクロファージを前処理した後に *M. abscessus* を感染させると、アポトーシスにより、菌量が有意に減少した⁽¹⁷⁾。この研究は、

SFNが肺*M. abscessus*症に使用される標準的多剤併用療法の補助治療薬として、有用である可能性を示していた⁽¹⁷⁾。

ヘム分解を担う酵素であるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) は、ROSや重金属などに細胞が曝されると発現がNRF2により誘導され、抗酸化活性および細胞保護作用を示す⁽¹⁸⁾。Regev Dらは、HO-1が肉芽腫の形成を促進し、*M. avium*の播種を防いでいることを報告している⁽¹⁹⁾。

最近、中嶋等はNRF2欠損マウスが野生型マウスに比べて*M. avium*菌に感受性が高いことを報告した⁽²⁰⁾。興味深いことに、NRF2はこの*M. avium*感染モデルにおいて、酸化ストレスやTh1サイトカイン産生のレベルに影響を与えなかった。包括的なトランスクリプトーム解析とその後のex vivo解析により、NRF2によって制御されるNatural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1) とHO-1は、それぞれファゴリソーム融合と肉芽腫形成の促進により*M. avium*感染に対する防御に関与することが示された。また、SFNを投与すると、野生型マウス肺のNRAMP1およびHO-1の発現が上昇し、*M. avium*に対する抵抗性が増加した。NRAMP1遺伝子はヒトの肺NTM症の疾患感受性遺伝子の一つであることから⁽²¹⁾、このNRF2-NRAMP1経路は肺NTM感染の病態を解明する上でも興味深いものであった。このように、NRF2は酸化ストレスの制御以外のメカニズムで*M. avium*感染に対する宿主抵抗性を決定する重要な因子であると考えられた。

NTM感染における加齢とNRF2

酸化ストレスの増加は、老化の大きな特徴であり、様々な老化関連病態に関与していると考えられている。加齢では、いくつかの原因により、酸化物質の産生が増加する一方で、抗酸化酵素が減少し、酸化ストレスに対する適応応答が低下する。NRF2の酸化ストレスに対する応答能力は、加齢に伴い低下することが報告されている⁽²²⁾。

肺NTM症は高齢者で有病率が高いことが報告されて

いる⁽²³⁾。また、高齢であること(≥65歳)が肺NTM症の予後不良に関連する独立した因子であることが示された⁽²⁴⁾。また、老齢マウスと若齢マウスにNTM菌を感染させた研究も報告されている⁽²⁵⁾。この研究では、老齢マウスでは感染後、HO-1反応の減弱、びまん性肺炎、臓器内菌量の増加、不良肉芽腫形成、生存率の低下が観察されたが、若年マウスでは明瞭な肉芽腫形成、HO-1の発現増加が観察された。以上のことから、高齢者では肺NTM感染に対して感受性が高く、HO-1反応の減弱がその一因として考えられた。上記のように、HO-1はNRF2により誘導されるため、高齢者のNTM感染感受性は、加齢によるNRF2機能の低下が関係しているとも推測される。

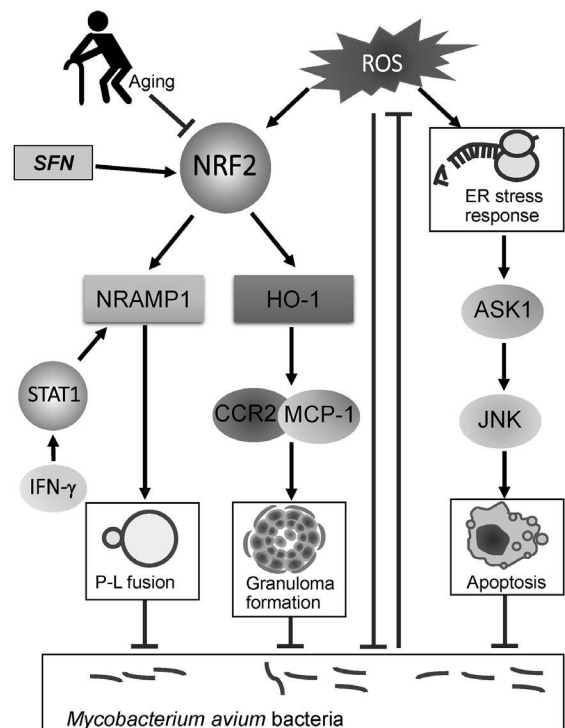


図 *Mycobacterium avium* 感染における NRF2 の役割の推定模式図。

Mycobacterium avium (*M. avium*) 感染は活性酸素を誘導し、NRF2 を活性化し、HO-1 と NRAMP1 を誘導して肉芽腫形成と P-L 融合を促進する。NRAMP1 は *M. avium* 感染時の IFN- γ /STAT1 シグナル伝達経路でも誘導される。活性酸素は *M. avium* を直接死滅させるだけでなく、感染細胞のアポトーシスを誘導する。一方、*M. avium* は活性酸素に対抗する手段を持っている。NRF2 は SFN によって活性化される。また、加齢により NRF2 の働きが抑制されることも報告されている。

結論

NTM感染時には、活性酸素は感染した食細胞において、酸化ストレスの重要な制御因子であるNRF2を活性化する。*M. avium*感染における推定上のNRF2の役割について図に示す⁽²⁶⁾。酸化ストレスに応答するNRF2の活性化は加齢とともに低下する。肺NTM症は、高齢者に多く見られるようになってきている。老齢マウスでは、HO-1反応の減衰に伴い、NTM感染に対する感受性が高くなることが報告されている。HO-1はNRF2の下流分子であることから、高齢者におけるNTM感染の感受性は、加齢に伴うNRF2の機能低下と関連している可能性がある。SFNはNRF2の活性化に関わる薬剤である。従って、酸化ストレスの制御とNRF2の活性化は、近い将来、肺NTM症の治療における新しい治療選択肢となる可能性がある。🐭

参考文献:

1. Park SC, Kang MJ, Han CH, Lee SM, Kim CJ, Lee JM, Kang YA. Prevalence, incidence, and mortality of nontuberculous mycobacterial infection in Korea: a nationwide population-based study. *BMC Pulm Med* 2019; 19: 140.
2. Adjemian J, Olivier KN, Seitz AE, Holland SM, Prevots DR. Prevalence of nontuberculous mycobacterial lung disease in U.S. Medicare beneficiaries. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 881-886.
3. Deramaut TB, Dill C, Bonay M. Regulation of oxidative stress by Nrf2 in the pathophysiology of infectious diseases. *Med Mal Infect* 2013; 43: 100-107.
4. Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake T, Hayashi N, Satoh K, Hatayama I, Yamamoto M, Nabeshima Y. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 313-322.
5. Silva MT. When two is better than one: macrophages and neutrophils work in concert in innate immunity as complementary and cooperative partners of a myeloid phagocyte system. *J Leukoc Biol* 2010; 87: 93-106.
6. Paiva CN, Bozza MT. Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens? *Antioxid Redox Signal* 2014; 20: 1000-1037.
7. Yamada Y, Saito H, Tomioka H, Jidoi J. Relationship between the susceptibility of various bacteria to active oxygen species and to intracellular killing by macrophages. *J Gen Microbiol* 1987; 133: 2015-2021.
8. Oberley-Deegan RE, Rebitts BW, Weaver MR, Tollefson AK, Bai X, McGibney M, Ovrutsky AR, Chan ED, Crapo JD. An oxidative environment promotes growth of *Mycobacterium abscessus*. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 1666-1673.
9. Li YJ, Danelishvili L, Wagner D, Petrofsky M, Bermudez LE. Identification of virulence determinants of *Mycobacterium avium* that impact on the ability to resist host killing mechanisms. *J Med Microbiol* 2010; 59: 8-16.
10. Kobayashi A, Kang MI, Okawa H, Ohtsui M, Zenke Y, Chiba T, Igarashi K, Yamamoto M. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 7130-7139.
11. Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular mechanism activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1208-1213.
12. Türei D, Papp D, Fazekas D, Földvári-Nagy L, Módos D, Lenti K, Csérmely P, Korcsmáros T. NRF2-ome: an integrated web resource to discover protein interaction and regulatory networks of NRF2. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 737591.
13. Mitsuishi Y, Taguchi K, Kawatani Y, Shibata T, Nukiwa T, Aburatani H, Yamamoto M, Motohashi H. Nrf2 redirects glucose and glutamine into anabolic pathways in metabolic reprogramming. *Cancer Cell* 2012; 22: 66-79.
14. Zhao Y, Du ZH, Talukder M, Lin J, Li XN, Zhang C, Li JL. Crosstalk between unfolded protein response and Nrf2-mediated antioxidant defense in Di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced renal injury in quail (*Coturnix japonica*). *Environ Pollut* 2018; 242: 1871-1879.
15. Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, Tanaka N, Moriguchi T, Motohashi H, Nakayama K, Yamamoto M. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun* 2016; 7: 11624.
16. Lv H, Yang H, Wang Z, Feng H, Deng X, Cheng G, Ci X. Nrf2 signaling and autophagy are complementary in protecting lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver injury by licochalcone A. *Cell Death Dis* 2019; 10: 313.
17. Bonay M, Roux AL, Floquet J, Retory Y, Hermann JL, Lofaso F, Deramaut TB. Caspase-independent apoptosis in infected macrophages triggered by sulforaphane via Nrf2/p38 signaling pathways. *Cell Death Discov* 2015; 1: 15022.
18. Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, Jozkowicz A, Dulak J. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cell Mol Life Sci* 2016; 73: 3221-3247.
19. Regev D, Surolija R, Karki S, Zolak J, Montes-Worboys A, Oliva O, Guroji P, Saini V, Steyn AJ, Agarwal A, Antony VB. Heme oxygenase-1 promotes granuloma development and protects against dissemination of mycobacteria. *Lab Invest* 2012; 92: 1541-1552.
20. Nakajima M, Matsuyama M, Kawaguchi M, Kiwamoto T, Matsuno Y, Morishima Y, Yoshida K, Sherpa M, Yazaki K, Osawa H, Muratani M, Ishii Y, Hizawa N. Nrf2 Regulates Granuloma Formation and Macrophage Activation during *Mycobacterium avium* Infection via Mediating Nramp1 and HO-1 Expressions. *mBio* 2021; 12.
21. Koh WJ, Kwon OJ, Kim EJ, Lee KS, Ki CS, Kim JW. NRAMP1 gene polymorphism and susceptibility to nontuberculous mycobacterial lung diseases. *Chest* 2005; 128: 94-101.
22. Zhang H, Davies KJA, Forman HJ. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. *Free Radic Biol Med* 2015; 88: 314-336.
23. Prevots DR, Shaw PA, Strickland D, Jackson LA, Raebel MA, Blosky MA, Montes de Oca R, Shea YR, Seitz AE, Holland SM, Olivier KN. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 970-976.
24. Jhun BW, Moon SM, Jeon K, Kwon OJ, Yoo H, Carriere KC, Huh HJ, Lee NY, Shin SJ, Daley CL, Koh WJ. Prognostic factors associated with long-term mortality in 1445 patients with nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: a 15-year follow-up study. *Eur Respir J* 2020; 55.
25. Surolija R, Karki S, Wang Z, Kulkarni T, Li FJ, Vohra S, Batra H, Nick JA, Duncan SR, Thannickal VJ, Steyn AJ, Agarwal A, Antony VB. Attenuated heme oxygenase-1 responses predispose the elderly to pulmonary nontuberculous mycobacterial infections. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2016; 311: L928-L940.
26. Matsuyama M, Nonaka M, Nakajima M, Morishima Y, Ishii Y, Hizawa N. The Role of NRF2 in Mycobacterial Infection. *Antioxidants (Basel)* 2021; 10.

略語: ROS, reactive oxygen species; NRF2, nuclear erythroid 2 p45-related factor; NRAMP1, natural resistance-associated macrophage protein 1; P-L fusion, phagolysosome fusion; HO-1, heme oxygenase 1; SFN, sulforaphane; ASK1, apoptosis signal-regulating kinase 1; JNK, c-Jun N-terminal kinase; ER, endoplasmic reticulum; TLR, toll-like receptor; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; CCR2, chemokine receptor 2; IFN- γ , interferon-gamma; STAT1, signal transducers and activators of transcription