

気道粘膜と免疫と抗酸菌感染症

結核研究所

副所長 慶長 直人

はじめに

結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*: Mtb) は上皮細胞で覆われている肺胞内のマクロファージに感染し、その結果、さまざまな免疫細胞からなる肉芽腫が形成される。上皮細胞 (EC) は直接、肺胞マクロファージ (AM) その他の免疫細胞の働きを調節する。したがって結核発症初期の病態生理を理解する上で、Mtb、上皮細胞および免疫系の相互作用が注目される。

肺胞上皮と気道上皮

肺胞上皮はガス交換を担う大型のI型肺胞細胞 (AEC1) とサーファクタント産生などの分泌機能を担う立方体のII型AEC2からなる。AEC2は自己複製してAEC1や他のサブセットを生み出す。一方、気道上皮は偽重層上皮で、そのほとんどが多列線毛細胞、分泌性の杯細胞やクラブ細胞からなり、神経内分泌細胞や基底細胞が点在している。最近になって、シングルセル技術の開発に伴い、房状 (tuft) 細胞やイオノサイトなどの小集団が発見されている。基底細胞は主に気道の自己再生に関与している¹⁾。

肺の上皮細胞による Mtb の感知

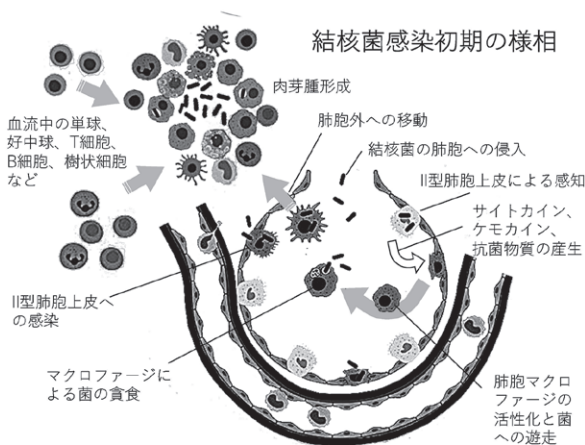
ECは微生物を感知するために、膜結合型Toll様受容体 (TLR) やC型レクチン、核酸結合オリゴマー化ドメイン (NOD) 様受容体、核酸センサーといった、さまざまなパターン認識受容体 (PRR) を発現している。病原体と接触するとPRRが活性化され、ECは炎症性・抗炎症性サイトカインやケモカインを分泌して、免疫細胞サブセットを引き寄せ、さらに抗菌ペプチド (AMP) を分泌する。 β -デフェンシンは、幅広い活性を有するAMPであり、抗酸菌感染に反応して気道および肺胞ECから産生される。カテリシジンAMPであるLL-37と β -デフェンシン-2 (hBD2) の発現はビタミンD刺激によって増強される。

上皮細胞の種類によって、多様な防御戦略が感染症の除去に寄与している。分泌性杯細胞は粘液を産生し、多列線毛細胞の繊毛運動によって気道に機械的に運ばれ、結果として病原体を物理的に除去する。AEC2は、前述の抗菌メディエーターと活性酸素を含むサーファクタントを分泌する。

肺の上皮細胞への Mtb 感染

肺のECは、病原体を感知して早期警戒・防御システムとして機能するほか、直接、抗酸菌感染を受けることもある。初代気道ECは、Mtbの感染に対して比較的感受性が低い。しかし、*M. avium*と*M. abscessus*は、生理的な量を超えて用いると感染する。

肺胞ECは気道ECよりMtb感染に対する感受性が高く、Mtbは肺胞バリアを通過するために感染した肺胞ECを細胞死させているようである。これらの研究はA549細胞のみを対象としており、肺胞初代ECでの検証が重要となる²⁾ (図)。



EC内部では、Mtbはまず貪食経路で処理され、肺胞や気道上皮の後期エンドソームコンパートメントに局在する。マクロファージと同様に、ECにおいてもMtbを含むコンパートメントとリソソームの融合が阻害されている。A549細胞では、感染したMtbはオートファジー・マーカーであるLC3で標識された小胞内で見つかり、オートファジー経路を経由して処理されることが示唆されている。

肺の上皮細胞による自然免疫細胞の活性化

気道および肺胞ECは抗酸菌感染時の炎症の調節因子として働く。たとえば、ECより産生されるIL-10がMtbの効果的なクリアランスを阻害している可能性が示唆されている。

またCXCL5 (ENA-78) はECによって産生されるケモカインであり、好中球の初期動員において重要である。Cxcl5^{-/-}マウスは、野生型マウスと比較して、

Mtb感染後の生存率が高い。おそらく過剰な上皮由来CXCL5は結核の白血球による破壊性炎症に関与している。

肺の上皮細胞による抗原提示とT細胞の活性化

Mtbに対する適応免疫応答の活性化には、T細胞への抗原提示が必須である。この役割は通常、樹状細胞によって担われているが、ヒト気管支および肺胞ECにおいても、主要組織適合性複合体クラスII (MHC-II) 分子の発現が確認されている。また副刺激分子CD86は初代気道ECとA549細胞に、CD80は肺胞ECに認められている。

さらにT細胞応答の形成におけるECの重要性を示す研究として、マウスおよびアカゲザルのモデルにおけるBCC粘膜ワクチン接種は、Mtbに対して皮内接種よりも優れた防御効果を示すことが知られている。粘膜接種では特にエフェクターメモリーT細胞 (TEM) および組織内メモリーT細胞 (TRM) が誘導されると報告されている。

他の適応免疫細胞も抗Mtb免疫に関与している可能性がある。Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞は気道に多く存在し、Mtb感染気道ECはMAIT細胞からのIFN- γ 産生を誘導する。肺上皮と制御性T細胞および自然リンパ系細胞 (ILCs) との相互作用については不明な点が多い。またT細胞によるIFN- γ の放出後、ECから分泌されるインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) 産物が、Th17細胞によるIL-17産生を選択的に抑制する。

肺の病態研究における微小環境構築の重要性

ヒトにおけるMtb感染の初期段階をin vivoで研究することは容易でない。動物モデルは過去に貴重な科学的洞察をもたらしたが、しばしばヒトの肺の生理学を反映しきれない。そこで、in vitroモデルは、Mtb感染症をより詳細に研究するための代替手段となるが、肺の微小環境を再現するのに十分な複雑さを備えていないことが多い。近年の細胞培養技術の発展により、目的の微小環境を再現するために、より複雑なin vitroモデルが提供されるようになった。このようなモデルと結核菌の組み合わせによる研究はまだ少ないが、結核の感染初期段階をさらに解明する上で重要である。

肺の(初代)上皮細胞の気相液相 (ALI) 培養

ALI培養系は、透水性膜の上に生着させた上皮細胞層から構成されている。細胞は先端側で空気に触れ、底部から栄養が供給され、その極性と分化を促進する。このモデルにより、ECを生理的環境に近い形で培養す

ることができる。

オルガノイド

オルガノイド培養は、特定の臓器環境を再現した3次元 (3D) モデルである。オルガノイドは、標的臓器から直接分離された成体幹細胞、前駆細胞あるいは胚性幹細胞やヒト人工多能性幹細胞から生成される自己組織化および自己再生の構造体である。基底細胞を含む気道ECやAEC2はそれぞれ気道や肺胞から分離され、オルガノイドが生成される。これらは3D成長の支持体となる細胞外マトリックスゲル内で培養される。

生体機能チップ

生体機能チップは、チップ上に臓器の機能を持ち、血管区画におけるダイナミックに制御された栄養の流れや、肺の呼吸運動を模した伸縮など、複数の区画を持つ生体内類似組織微細環境を再現することを目的としている。肺のECを血管細胞、免疫細胞、あるいはヒト人工多能性幹細胞と組み合わせて使用するさまざまなチップモデルが開発されている。

組織培養片

ヒト肺組織摘出片には、骨髄系細胞、リンパ球のほか、線維芽細胞、内皮細胞など関連するすべての細胞種が含まれている。ヒトの組織培養片では、肺胞ECは容易にMtbに感染する。肺胞上皮でのサイトカイン発現が分析され、AM、NK細胞、 γ/δ T細胞、MAIT細胞、ILCなどの白血球サブセットが明らかになった組織培養は最も代表的な肺のモデルである。ただし長期観察には適していない。

今後の展望

BCGより有効性の高いワクチンが開発されるまで、Mtbは深刻な脅威であり続けるであろう。新規結核ワクチン開発の難しさは、肺の粘膜上皮や免疫担当細胞と結核菌の初期相互作用に関する知識の欠如に起因しているように思われる。

結論として、結核症の転帰の背後にある複雑なメカニズムを解明するためには、Mtb感染の初期段階における肺上皮の役割に関する、より詳細な研究が必要である。今後、上皮、免疫細胞、Mtbの相互作用を統合解析する病態研究が新規優先課題のひとつとなるものと予想される。🐼

参考文献:

- 1) Hewitt RJ, Lloyd CM. Regulation of immune responses by the airway epithelial cell landscape. *Nat Rev Immunol*. 2021;21 (6) :347-362.
- 2) de Waal AM, Hiemstra PS, Ottenhoff TH, et al. Lung epithelial cells interact with immune cells and bacteria to shape the microenvironment in tuberculosis. *Thorax*. 2022;77 (4) :408-416.