

## 【総説】

## 抗酸菌症の免疫補助療法

—マクロファージ機能との関連から—

富岡 治明<sup>1,2)</sup>・多田納 豊<sup>3)</sup>・清水 利朗<sup>4)</sup>・佐藤 勝昌<sup>5)</sup>・佐野 千晶<sup>6)</sup><sup>1)</sup> 安田女子大学教育学部児童教育学科\*<sup>2)</sup> 島根大学医学部医学科<sup>3)</sup> 国際医療福祉大学薬学部薬学科<sup>4)</sup> 安田女子大学家政学部管理栄養学科<sup>5)</sup> 神戸女子大学家政学部管理栄養士養成課程<sup>6)</sup> 島根大学医学部地域医療支援学

(平成 28 年 9 月 8 日受付・平成 28 年 9 月 28 日受理)

近年、多剤耐性結核や易感染性宿主での *Mycobacterium avium complex* (MAC) 症といった難治性抗酸菌症が問題になっている。こうした抗酸菌症の治療には、既存のものよりも強力な新規抗結核薬、抗 MAC 薬の開発が急務であるが、そうした新しいタイプの抗菌薬の開発は、delamanid, bedaquiline, pretomanid などの例を除いては遅々として進んでいないのが現状である。こうした状況下にあっては、既存の抗菌薬の治療効果を側面から増強するような何らかの補助薬剤を併用して行くという取り組みが現実的である。本稿では、難治性抗酸菌症の抗菌薬による化学療法に免疫補助剤を併用するいわゆる免疫補助療法の最近の展開について概説した。

**Key words:** immunoadjuvative therapy, host-directed therapeutics, macrophage, mycobacterial infection

わが国では、病原性が強く多剤耐性との関連性が高い北京型株による結核症が7割を超えている<sup>1,2)</sup>。その多く(8割)は ancient type であり、B1, B5 などの特定の遺伝子系統を除いては多剤耐性結核菌の分離頻度が特に高いという訳ではないが<sup>2)</sup>、2007~2009 年の調査では、初回治療結核患者や既治療結核患者での多剤耐性率はおのおの 0.6% および 5.1% というレベルであり、その治療が問題になっている<sup>3)</sup>。さらに、易感染性宿主での *Mycobacterium avium complex* (MAC) 症といった非結核性抗酸菌 (NTM) による難治性抗酸菌症もまた医療上の大きな問題である<sup>4)</sup>。これら薬剤耐性結核の治療、さらに結核の新しいタイプの短期化学療法レジメンの開発、あるいは AIDS などによる宿主免疫能の低下に起因する難治性抗酸菌症の増加に対処するためには、既存のものよりも強力かつ交差耐性のない新しい抗菌薬の開発が急務と言える。現在、新しいタイプの薬剤標的をベースにして、抗酸菌症治療のための新規抗菌薬の開発研究が進められているものの、rifampicin の登場以来、新リファマイシン, delamanid, bedaquiline, pretomanid などの開発、キノロン薬やマクロライド薬の抗酸菌症への適用以外には、これといった有望な結核・MAC 感染症治療薬の登場を見ぬままに時の経過を見てい

る<sup>4~6)</sup>。こうした現状では、現時点で利用し得る抗菌薬による治療効果を何らかの補助剤を用いて増強させるような strategy のほうがより現実味があるように思われる。特に、既存の抗菌薬による治療に何らかの免疫修飾剤 (host-directed therapeutic: HDT) を併用して、宿主の抗酸菌に対する免疫能を増強させるか、あるいは組織傷害に結びつくような過度の免疫反応や炎症反応を制御することにより抗菌薬の治療効果を高めようとする免疫補助療法が有望とされているが、本稿では、宿主マクロファージの機能を修飾するとされる HDT を中心に免疫補助療法の最近の展開について概説したい。

ところで、HDT は抗酸菌感染症に対して、①感染菌の病原性発現にかかわる宿主因子の阻害、②抗酸菌に対する宿主の自然免疫系機能の亢進、③抗酸菌症の進展に関係した宿主側の応答の抑制、④抗酸菌感染によって招来される宿主の免疫抑制状態の回復といったメカニズムで治療効果を発揮するものと考えられる<sup>7)</sup>。上記③との関連で言えば、ある種の HDT には、宿主の抗酸菌に対する過剰な免疫応答とその発現に起因した組織傷害や過度な炎症を防止するような作用が知られている<sup>8~10)</sup>。これらの HDT には、蛋白キナーゼ依存の細胞内シグナル伝達系に作用するもの (imatinib, gefitinib), cAMP

依存のシグナル伝達系に作用するもの(cilostazol, pentoxifylline, sildenafil), エイコサノイド依存のシグナル伝達系に作用するもの(aspirin, zileuton, prostaglandin E<sub>2</sub>, ibuprofen), オートファジーに関連したシグナル伝達系に作用するもの(rapamycin, metformin, gefitinib, fluoxetine, valproic acid), および脂質代謝系に作用するもの(mepenzolate, thiazolidinedione, statin)などが知られている<sup>7-10)</sup>。現在, Table 1 にリストアップしたような HDT が開発されつつあるが, いずれも強弱の差こそあれ, 抗酸菌感染宿主のマクロファージ, NK 細胞, Th1 細胞の活性化作用, あるいはマクロファージの免疫抑制性サイトカイン産生能の阻害活性などを有している<sup>7-10)</sup>。なかでも, 活性型 vitamin D<sub>3</sub>, 非ステロイド性抗炎症薬(NSAID), オートファジー誘導剤,  $\alpha$ -galactosylceramide, ATP, ピコリン酸, imidazoquinoline S28463 などが比較的有望と思われる(Table 1)。以下, 特に興味深い HDT について最近の知見をベースに紹介する。

### I. 活性型 vitamin D<sub>3</sub>

1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>(活性型 vitamin D<sub>3</sub>)は, 宿主マクロファージの活性酸化窒素分子種(RNI)や cathelicidin などの抗菌ペプチドの産生能を増強する作用や, オートファジー誘導能を有しており, 抗酸菌感染に対する防御システムに重要な役割を演じている<sup>11)</sup>。実際に, vitamin D の欠乏は活動性結核や潜在性結核感染症の重要なリスクファクターである<sup>12,13)</sup>。興味深いことに, Toll 様受容体(TLR)を介する活性化シグナルは, マクロファージの vitamin D 受容体(VDR)の発現を増強させることにより, マクロファージの cathelicidin 産生の増強をもたらすことが報告されている<sup>14)</sup>。この場合, TLR と VDR を介する活性化シグナルは協同作用を演じ, cathelicidin の発現増強を誘導するが, 後述のオートファジーによって形成されるオートファゴソーム内では, cathelicidin と結核菌とが効率よく接触することになる。これらの知見との関連で VDR 遺伝子のある種の多型性(*FokI* FF 遺伝子型や *TaqI* Tt 遺伝子型など)は結核治療に対する患者の反応性と関連していることが知られている<sup>15)</sup>。なお, 活性型 vitamin D<sub>3</sub>を用いた結核免疫補助療法は L-arginine との併用で効力を増すことが知られている。活性型 vitamin D<sub>3</sub>と L-arginine の併用は, 宿主マクロファージの抗菌活性が増強し, 活動型結核患者の症状改善に効果的であり, 薬剤耐性結核を含めて抗結核化学療法 of 投薬期間の短縮が可能となる<sup>16)</sup>。しかしながら別の臨床研究では, 肺結核に対する活性型 vitamin D<sub>3</sub>と L-arginine の併用療法の臨床効果に否定的な成績も報告されている<sup>17)</sup>。

### II. NSAID

Diclofenac sodium, ibuprofen や aspirin などの NSAID は, 結核菌感染マウスを用いた研究で感染部位での結核菌の排除を促進し, 結核病巣の大きさや数を減少させることが報告されている<sup>18,19)</sup>。この NSAID の薬効は,

NSAID が結核菌に対する防御免疫, 特に宿主マクロファージの抗菌活性の発現に抑制的に働く prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)の生合成を阻害する活性をもつことに起因している<sup>20)</sup>。加えて, PGE<sub>2</sub>はマクロファージや樹状細胞の IL-12 産生を阻害し, ひいては Th1 細胞の IFN- $\gamma$  産生能を抑制し, 逆に Th2 細胞による免疫抑制サイトカイン IL-4 や IL-10 の産生を増強することが知られている。さらに NSAID の結核に対する治療効果は, NSAID が prostaglandin H<sub>2</sub>や prostacyclin などの強力な炎症性メディエーターの生合成に働く COX-1 や COX-2 活性を阻害することにも関係している<sup>20)</sup>。他方, diclofenac sodium は, MAC 感染マクロファージの MAC に対する抗菌力を増強することはないが, マクロファージの TNF- $\alpha$  産生能を増強し, IL-10 産生能は逆に抑制することが報告されている<sup>21)</sup>。しかしながら, MAC 感染マウスへの diclofenac sodium 投与によって, rifamycin の治療効果が特に増強される傾向は認められていない。いずれにしても, 抗酸菌症治療のための HDT として今後のさらに詳しい検討が待たれる。

### III. オートファジー誘導剤

オートファジーは宿主の結核菌に対する特に自然免疫系での感染防御システムにおいて重要な役割を演じている<sup>22,23)</sup>。その理由としては, オートファジーがマクロファージのファゴソームから細胞質内にエスケープした結核菌の排除に有効であることが考えられる。オートファジーは TLR や NOD などの pattern recognition receptor (PRR) の下流の細胞内シグナル伝達系の制御を受けているが, 実際に, pathogenicity-associated molecular patterns (PAMPs) を認識したマクロファージにおいては, TLR/MyD88 を介する細胞内シグナル伝達経路の活性化によってオートファジーに連動した結核菌の殺菌・排除が亢進される。この場合, TLR/MyD88 や TLR/TRIF 系の活性化により, これらの複合体への bectin 1 (Atg6) のリクルートが亢進されることによりオートファジーが誘導され, その結果として, オートファジーによる結核菌の殺菌が発動されるものと考えられている<sup>24)</sup>。なお, オートファジーに連動したオートリソソーム内での結核菌の殺菌には, ユビキチンの加水分解産物である断片が抗菌ペプチドとして働いているという報告もある。他方, Th1, Th2 サイトカインによる制御も知られていて, 前者はオートファジーに対して促進的に, 後者は抑制的に働いている<sup>25)</sup>。例えば, Th1 サイトカインである IFN- $\gamma$  は AKT (protein kinase B) 非依存性かつ STAT6 依存性にオートファジーを誘導し, 結果としてオートファゴソーム内での結核菌の殺菌が起こる<sup>23)</sup>。これに対して, Th2 サイトカインである IL-4 や IL-13 は AKT 依存性にオートファジーの誘導を阻害することにより, オートファジー依存性の結核菌殺菌を抑制する。こうした知見に関連して, rapamycin, vadimezan や ge-

Table 1. Promising HDTs expected to be useful in adjunctive immunotherapy for mycobacterial diseases

1. Vitamin D <sub>3</sub> /Calcitriol
(1) Induction of maturation and activation of host macrophages
(i) Up-regulation of RNI production and antimicrobial peptides
(ii) Down-regulation of TGF- $\beta$ production
(2) Induction of autophagy in host macrophages via cathelicidin
(3) Essential for anti-TB immunity
(4) Association between vitamin D receptor gene polymorphism with:
(i) host susceptibility to MTB infection
(ii) host response to anti-TB therapy
References: Lui, 2006; Martineau, 2007; Gao, 2010; Martineau, 2011; Fabri, 2012; Coussens, 2012, 2015; Schön, 2013; Selvaraj, 2015
2. NSAIDs (diclofenac sodium, ibuprofen, aspirin)
(1) Reduction of TNF- $\alpha$ generation by macrophages
(2) Suppression of biosynthesis of PGE <sub>2</sub> by macrophages
(3) Therapeutic activity against murine TB
(4) Potentiation of the therapeutic efficacy of rifamycin against MAC infection in mice
References: Sano, 1999; Dutta, 2007; Byrne, 2007; Ivanyi 2013; Vilaplana, 2013
3. Autophagy inducers (rapamycin, metformin, gefitinib, fluoxetine, valproic acid)
(1) Potentiation of the elimination of intramacrophage MTB dependent on IFN- $\gamma$ receptor-, TLR- and P2X <sub>7</sub> receptor-mediated autophagy in host macrophages
References: Gutierrez, 2004; Alonso, 2007; Harris, 2007; Biswas, 2008; Delgado, 2008; Deretic, 2009; Yuk, 2009; Ghadimi, 2010; Ni Cheallaigh, 2011; Hawn, 2015; Tobin, 2015; Wallis, 2015
4. $\alpha$ -Galactosylceramide
(1) Activation of CD1d-restricted NKT cells
(2) Potentiation of macrophage antimicrobial activity against MTB
(3) Potentiation of host anti-MTB resistance
References: Kawato, 1997; Burdin, 1999; Carnaud, 1999; Kitamura, 1999; Chackerian, 2002; Gansert, 2003; Sada-Ovalle, 2010; Arora, 2013
5. ATP
(1) Potentiation of macrophage activity against mycobacterial organisms via P2X <sub>7</sub> or P2Y <sub>2</sub>
(2) Up-regulation of cPLA <sub>2</sub> -dependent antimicrobial function of host macrophages
(3) Potentiation of therapeutic effects of clarithromycin/rifamycin against MAC infection
(4) Expression of direct antimicrobial activity against bacteria through deprivation of ferric ions
References: Lammas 1997; Fairbairn, 2001; Kusner, 2001; Stober, 2001; Tomioka, 2005; Placido, 2006; Hanley, 2012; Tatano, 2015
6. Picolinic acid
(1) Potentiation of anti-MAC activity of host macrophages
(2) Strong bactericidal activity against persistent-type MTB
References: Pais, 2000; Cai, 2006; Shimizu, 2006; Tomioka, 2007; Pavan, 2013
7. Imidazoquinolines (S28463/R-848, S-27609)
(1) Enhancement of macrophage production of RNIs and inflammatory cytokines
(2) Potentiation of host resistance to BCG infection in mice
References: Testerman, 1995; Moisan, 2001

TB: tuberculosis; MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; cPLA<sub>2</sub>: cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>

fitinibなどのオートファジー誘導剤は結核患者の抗菌化学療法の薬効を増強させるためのHDTとして有望視されている<sup>7,8)</sup>。

#### IV. $\alpha$ -Galactosylceramide

ヒトやマウスのNKT細胞は、海綿から抽出される糖脂質である $\alpha$ -galactosylceramide ( $\alpha$ GalCer)をCD1dを介して認識し活性化される<sup>26)</sup>。実際に $\alpha$ GalCerは、マウスに投与した場合、CD1d拘束性のNKT細胞の機能を介して、自然免疫と獲得免疫の両者の免疫システムのup-regulationを速やかに誘導することが報告されている。例えば、 $\alpha$ GalCer投与数時間以内に、NKT細胞の活性化を介した形でNK細胞からのIFN- $\gamma$ 産生が増強さ

れる。また、 $\alpha$ GalCerによるNKT細胞の活性化がマクロファージや樹状細胞の共存下で起こると、NKT細胞は速やかに増殖性応答を示し、その細胞傷害能が増強し、さらにTh1免疫系のup-regulationにかかわるIFN- $\gamma$ の産生能も著しく亢進する。実際に、 $\alpha$ GalCer投与により宿主マウスの結核菌に対する抵抗性が高まることが報告されており、肺での感染菌の増殖抑制、組織傷害反応の減弱、感染による死亡率の低下が認められている<sup>27)</sup>。この $\alpha$ GalCer投与による感染抵抗性の増強効果については、 $\alpha$ GalCerによって活性化されたNKT細胞が間接的にマクロファージの抗菌活性をup-regulateするメカニズム、あるいはNK細胞やキラーT細胞の細胞傷害反応の

エフェクターである granulysin の NKT 細胞の産生能が  $\alpha$ GalCer によって up-regulate されるというメカニズムが考えられている。しかしながら、最近の結核菌感染マウスを用いた研究では、 $\alpha$ GalCer と isoniazid の併用治療効果が Th1 細胞機能の増強を介した形で認められると報告されており、 $\alpha$ GalCer による結核菌に対する宿主抵抗性の増強は、NKT 細胞のみならず Th1 細胞の機能亢進を介するようである<sup>28)</sup>。このことに関連して、isoniazid により結核菌抗原に特異的な CD4<sup>+</sup> T 細胞にアポトーシスが誘導されることによって、宿主の結核菌感染抵抗性が減弱し、ひいては結核菌による再感染が助長されるという Tousif らの成績が注目されるが<sup>29)</sup>、 $\alpha$ GalCer が isoniazid のこのような免疫抑制作用に対して拮抗的に働く可能性も考えられる。いずれにしても、 $\alpha$ GalCer は抗酸菌症の治療のための HDT として有望であり、今後の研究に期待したい。

#### V. ATP とその誘導體

Adenosine 5'-triphosphate (ATP) およびその誘導體は P2 レセプターを介して血管内皮細胞などのさまざまな細胞に作用することが知られているが、ATP は P2X<sub>7</sub> や P2Y などの P2 レセプターを介してマクロファージの結核菌に対する殺菌能を増強させることが報告されている<sup>30)</sup>。ATP 処理を受けたマクロファージでは、細胞内に局在する結核菌や BCG (結核菌群の抗酸菌 *Mycobacterium bovis* の弱毒株) が速やかに殺菌されていくが、この現象は、①ATP によって P2X<sub>7</sub> レセプター依存性に誘導される phospholipase D の活性化に連動した phagosome-lysosome 融合、②P2X<sub>7</sub> レセプターを介するシグナルによって誘導されるマクロファージのアポトーシス、③P2X<sub>7</sub> レセプター依存性に誘導される cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> の活性化と抗酸菌を取り込んだファゴソームへのリクルートに連動しているとの報告がある<sup>30-32)</sup>。こうした免疫学的なメカニズムの他に、ATP が Fe イオンのキレーターとして働き、結核菌や MAC などの抗酸菌の増殖を直接的に阻害しているというメカニズムが一部関係していることを示す成績も報告されている<sup>33)</sup>。最近、ATP が細菌感染による敗血症に対して防御効果を発揮すること、ならびにその作用は P2X<sub>7</sub> レセプターを介する宿主マクロファージの抗菌活性の増強に基づくものであることが報告されている<sup>34)</sup>。以上の知見から考えて、ATP は抗酸菌症に対する抗菌薬の治療効果の増強を図るうえで、有望な薬剤であるように思われる。ATP は血管拡張作用を有し、虚血性疾患の血流動態の改善に用いられているが、特に問題となるような副作用はなく、また安価な薬剤であるので結核治療の HDT として有望と考えられる。

#### VI. ピコリン酸

トリプトファン分解産物であるピコリン酸は、Zn<sup>2+</sup> や Fe<sup>2+</sup> などの金属イオンに対して chelating 活性を有

し、腸管からの Zn<sup>2+</sup> の吸収を促進する薬理作用が知られており、ピコリン酸クロムはインスリンの分泌を高める働きがあるところから糖尿病の予防薬として、さらに脂質代謝系に働き中性脂肪・コレステロール値を正常化する作用があるところから動脈硬化や高血圧の予防薬として用いられている。ピコリン酸は、MAC 感染マクロファージに作用させるとアポトーシスを誘導し、これに連動してマクロファージ内局在 MAC の増殖抑制がみられることが知られている<sup>35)</sup>。また、ピコリン酸にはマクロファージ内局在 MAC に対するキノロンの抗菌活性を強化する作用も認められている。興味深いことに、ピコリン酸のマクロファージの抗 MAC 抗菌活性の増強作用は、マクロファージの活性酸素分子種、RNI、抗菌ペプチド defensin の産生亢進を介したのではない<sup>36)</sup>。加えて、ピコリン酸には Fe イオンのキレーターとしての活性もあり、MAC 菌の増殖に必要な Fe イオンを奪うといった菌に対する直接的な抗菌作用も、ピコリン酸によるマクロファージの抗酸菌に対する抗菌活性の up-regulation に関係しているようである<sup>37)</sup>。ちなみに、ruthenium (II) phosphine/diimine/ピコリン酸コンプレックスが薬剤耐性結核菌に強い抗菌作用を示すことが報告されている<sup>38)</sup>。ピコリン酸は、毒性が非常に低いうえに安価であり、MAC 症の化学療法のための免疫補助剤としての有用性が期待される場所である。

#### VII. Imidazoquinoline S28463 (resiquimod, R-848)

S28463 は、抗ウイルス活性、抗腫瘍活性、アジュバント活性を有する imidazoquinoline 系薬剤であるが、imidazoquinoline とその誘導體には、*in vivo* での血中 IFN- $\alpha/\beta$  の誘導能、IL-1、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  分泌の亢進作用、樹状細胞の成熟・サイトカイン発現の誘導能、B 細胞の成熟・抗体産生の誘導能などが知られている<sup>39)</sup>。さらに、S28463 にはマクロファージの RNI 産生能を up-regulate する活性があり、ひいては *Nramp1* 遺伝子が野生型 (*Bcg'* genotype) であるマウスの BCG 感染に対する宿主感染抵抗性を増強させる作用を示すところから、この薬剤は抗酸菌感染症に対する化学療法の免疫補助剤として有望である<sup>40)</sup>。興味深いことに、S28463 は TLR7 や TLR8 のリガンドとしての活性を有しており、TLR7/8 シグナリングを介した機作によるアレルギー性喘息の発症抑制作用や、慢性喘息に起因する気道のリモデリングの抑制作用を有することが報告されている<sup>41)</sup>。

#### VIII. おわりに

以上、結核や MAC 症の抗菌薬療法の治療効果を改善するための免疫補助療法とそのための HDT について、特に有望と思われるものを中心に概説してきたが、抗酸菌感染症の治療にあつては、こうした免疫補助剤の投与は必然的に長期に及ぶものと考えられるので、なるべく安価で副作用の少ないものが望ましい。加うるに、長期投与を行った場合でも、宿主マクロファージの免疫抑制

サイトカインやPGE<sub>2</sub>などの免疫抑制性因子の発現を誘導するような作用をもたないようなHDTが好都合である。換言すれば、宿主免疫系の過度な活性化に起因した免疫抑制が起こらないような程度のマイルドな細胞性免疫系のup-regulationを可能にするような薬剤が有望であるということである。現時点でそうした条件をクリアできそうなものとしては、強いて挙げれば、ATPや本稿では述べなかった麻黄附子細辛湯などの漢方薬が該当するが<sup>42)</sup>、実際にMAC感染マウスの抗菌薬療法に免疫補助剤として用いた場合の薬効は、特に満足のいくレベルのものではなく、さらに優れた薬効を示すATP誘導体の開発が大いに望まれるところである。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

#### 文 献

- 1) Bifani P J, Mathema B, Kurepina N E, Kreiswirth B N: Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. *Trends Microbiol* 2002; 10: 45-52
- 2) 岩本朋忠：結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学的解析から推察される日本国内定着型遺伝系統群の存在と遺伝系統別薬剤耐性化傾向の違い。結核 2009; 84: 755-9
- 3) 大森正子, 伊藤邦彦, 内村和広, 山内祐子, 下内 昭, 吉山 崇, 他：地域別肺結核患者の薬剤耐性率結果における結核サーベイランスシステムの有用性の検討—薬剤耐性率の代表性の観点から—。結核 2011; 86: 729-35
- 4) Tomioka H: Current status of some antituberculosis drugs and the development of new antituberculous agents with special reference to their in vitro and in vivo antimicrobial activities. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 4047-70
- 5) Tomioka H: New approaches to tuberculosis—novel drugs based on drug targets related to toll-like receptors in macrophages. *Curr Pharm Des* 2014; 20: 4404-17
- 6) Mdluli K, Kaneko T, Upton A: The tuberculosis drug discovery and development pipeline and emerging drug targets. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5: pii: a021154
- 7) Hawn T R, Shah J A, Kalman D: New tricks for old dogs: countering antibiotic resistance in tuberculosis with host-directed therapeutics. *Immunol Rev* 2015; 264: 344-62
- 8) Wallis R S, Hafner R: Advancing host-directed therapy for tuberculosis. *Nat Rev Immunol* 2015; 15: 255-63
- 9) Tobin D M: Host-directed therapies for tuberculosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5: pii: a021196
- 10) Rayasam G V, Balganesht T S: Exploring the potential of adjunct therapy in tuberculosis. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36: 506-13
- 11) Selvaraj P, Harishankar M, Afsal K: Vitamin D: Immuno-modulation and tuberculosis treatment. *Can J Physiol Pharmacol* 2015; 93: 377-84
- 12) Gupta A, Montepiedra G, Gupte A, Zeldow B, Jubulis J, Detrick B, et al: Low Vitamin-D levels combined with *PKP3-SIGIRR-TMEM16J* host variants is associated with tuberculosis and death in HIV-infected and -exposed infants. *PLoS One* 2016; 11: e0148649
- 13) Coussens A K, Wilkinson R J, Hanifa Y, Nikolayevskyy V, Elkington P T, Islam K, et al: Vitamin D accelerates resolution of inflammatory responses during tuberculosis treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 15449-54
- 14) Liu P T, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan B H, Krutzik S R, et al: Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-3
- 15) Roth D E, Soto G, Arenas F, Bautista C T, Ortiz J, Rodriguez R, et al: Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and response to treatment of pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2004; 190: 920-7
- 16) Schön T, Lerm M, Stendahl O: Shortening the 'short-course' therapy- insights into host immunity may contribute to new treatment strategies for tuberculosis. *J Intern Med* 2013; 273: 368-82
- 17) Ralph A P, Waramori G, Pontororing G J, Kenangalem E, Wiguna A, Tjitra E, et al: L-arginine and vitamin D adjunctive therapies in pulmonary tuberculosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *PLoS One* 2013; 8: e70032
- 18) Dutta N K, Mazumdar K, Dastidar S G, Park J H: Activity of diclofenac used alone and in combination with streptomycin against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30: 336-40
- 19) Vilaplana C, Marzo E, Tapia G, Diaz J, Garcia V, Cardona P J: Ibuprofen therapy resulted in significantly decreased tissue bacillary loads and increased survival in a new murine experimental model of active tuberculosis. *J Infect Dis* 2013; 208: 199-202
- 20) Ivanyi J, Zumla A: Nonsteroidal antiinflammatory drugs for adjunctive tuberculosis treatment. *J Infect Dis* 2013; 208: 185-8
- 21) Sano C, Shimizu T, Sato K, Kawachi H, Kawahara S, Tomioka H: Therapeutic effects of benzoxazinorifamycin KRM-1648 administered alone or in combination with a half-sized secretory leukocyte protease inhibitor or the nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium against *Mycobacterium avium* complex infection in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 360-4
- 22) Deretic V, Delgado M, Vergne I, Master S, De Haro S, Ponpuak M, et al: Autophagy in immunity against *Mycobacterium tuberculosis*: a model system to dissect immunological roles of autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol* 2009; 335: 169-88
- 23) Ni Cheallaigh C, Keane J, Lavelle E C, Hope J C, Harris J: Autophagy in the immune response to tuberculosis: clinical perspectives. *Clin Exp Immunol* 2011; 164: 291-300
- 24) Shi C S, Kehrl J H: MyD88 and Trif target Beclin 1 to trigger autophagy in macrophages. *J Biol Chem* 2008; 283: 33175-82
- 25) Harris J, De Haro S A, Master S S, Keane J, Roberts E A, Delgado M, et al: T helper 2 cytokines inhibit autophagic control of intracellular *Mycobacterium tu-*

- berculosis*. Immunity 2007; 27: 505-17
- 26) Arora P, Foster E L, Porcelli S A: CD1d and natural killer T cells in immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. Adv Exp Med Biol 2013; 783: 199-223
  - 27) Chackerian A, Alt J, Perera V, Behar S M: Activation of NKT cells protects mice from tuberculosis. Infect Immun 2002; 70: 6302-9
  - 28) Sada-Ovalle I, Sköld M, Tian T, Besra G S, Behar S M:  $\alpha$ -Galactosylceramide as a therapeutic agent for pulmonary *Mycobacterium tuberculosis* infection. Am J Respir Crit Care Med 2010; 182: 841-7
  - 29) Tousif S, Singh D K, Ahmad S, Moodley P, Bhattacharyya M, Van Kaer L, et al: Isoniazid induces apoptosis of activated CD4<sup>+</sup> T cells: implications for post-therapy tuberculosis reactivation and reinfection. J Biol Chem 2014; 289: 30190-5
  - 30) Kusner D J, Adams J: ATP-induced killing of virulent *Mycobacterium tuberculosis* within human macrophages requires phospholipase D. J Immunol 2000; 164: 379-88
  - 31) Fairbairn I P, Stober C B, Kumararatne D S, Lammas D: ATP-mediated killing of intracellular mycobacteria by macrophages is a P2X<sub>7</sub>-dependent process inducing bacterial death by phagosome-lysosome fusion. J Immunol 2001; 167: 3300-7
  - 32) Tomioka H, Sano C, Sato K, Ogasawara K, Akaki T, Sano K, et al: Combined effects of ATP on the therapeutic efficacy of antimicrobial drug regimens against *Mycobacterium avium* complex infection in mice and roles of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>-dependent mechanisms in the ATP-mediated potentiation of antimycobacterial host resistance. J Immunol 2005; 175: 6741-9
  - 33) Tatano Y, Kanehiro Y, Sano C, Shimizu T, Tomioka H: ATP exhibits antimicrobial action by inhibiting bacterial utilization of ferric ions. Sci Rep 2015; 5: 8610
  - 34) Csóka B, Németh Z H, Törő G, Idzko M, Zech A, Koscsó B, et al: Extracellular ATP protects against sepsis through macrophage P2X<sub>7</sub> purinergic receptors by enhancing intracellular bacterial killing. FASEB J 2015; 29: 3626-37
  - 35) Pais T F, Appelberg R: Macrophage control of mycobacterial growth induced by picolinic acid is dependent on host cell apoptosis. J Immunol 2000; 164: 389-97
  - 36) Tomioka H, Shimizu T, Tatano Y: Effects of picolinic acid on the antimicrobial functions of host macrophages against *Mycobacterium avium* complex. Int J Antimicrob Agents 2007; 29: 460-4
  - 37) Shimizu T, Tomioka H: Activity of picolinic acid in combination with the antiprotozoal drug quinacrine against *Mycobacterium avium* complex. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 3186-8
  - 38) Pavan F R, Poelhsitz G V, da Cunha L V, Barbosa M I, Leite S R, Batista A A, et al: In vitro and in vivo activities of ruthenium (II) phosphine/diimine/picolinate complexes (SCAR) against *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One 2013; 8: e64242
  - 39) Testerman T L, Gerster J F, Imbertson L M, Reiter M J, Miller R L, Gibson S J, et al: Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. J Leukoc Biol 1995; 58: 365-72
  - 40) Moisan J, Wojciechowski W, Guilbault C, Lachance C, Di Marco S, Skamene E, et al: Clearance of infection with *Mycobacterium bovis* BCG in mice is enhanced by treatment with S28463 (R-848), and its efficiency depends on expression of wild-type *Nramp1* (resistance allele). Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 3059-64
  - 41) Camateros P, Tamaoka M, Hassan M, Marino R, Moisan J, Marion D, et al: Chronic asthma-induced airway remodeling is prevented by toll-like receptor-7/8 ligand S28463. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 1241-9
  - 42) Shimizu T, Tomioka H, Sato K, Sano C, Akaki T, Dekio S, et al: Effects of the Chinese traditional medicine mao-bushi-saishin-to on therapeutic efficacy of a new benzoxazinorifamycin, KRM-1648, against *Mycobacterium avium* infection in mice. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 514-9

## Immunoadjunctive therapy for mycobacterial infections based on host macrophage functions

Haruaki Tomioka<sup>1,2)</sup>, Yutaka Tatano<sup>3)</sup>, Toshiaki Shimizu<sup>4)</sup>,  
Katsumasa Sato<sup>5)</sup> and Chiaki Sano<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Education for Children, Yasuda Women's University, 6-13-1 Yasuhigashi, Asaminami-ku, Hiroshima, Japan

<sup>2)</sup> Shimane University School of Medicine

<sup>3)</sup> Department of Pharmaceutical Sciences, International University of Health and Welfare

<sup>4)</sup> Department of Nutrition Administration, Yasuda Women's University

<sup>5)</sup> Faculty of Home Economics, Kobe Women's University

<sup>6)</sup> Department of Community Medicine Management, Shimane University School of Medicine

New antimycobacterial drugs are urgently required to cope with the high incidence of tuberculosis (TB) in developing countries, the resurgence of TB in industrialized countries, the increase in drug-resistant TB, and the global increase in the prevalence of *Mycobacterium avium* complex infections in immunocompromised hosts. However, the development of such antimicrobial chemotherapeutics is currently making very slow progress, even with the use of a bioinformatics-based methodology for drug design. Therefore, devising improved administration protocols for clinical treatment against refractory mycobacteriosis using existing chemotherapeutic agents appears to be more practical than awaiting the development of novel antimycobacterial drugs. Host-directed therapeutics (HDTs) are expected to increase the efficacy of antimycobacterial regimens against mycobacteriosis. Particularly, the up-regulation of host immunity relating to macrophage antimicrobial functions may be beneficial to immunoadjunctive therapy. This review will deal with the current status regarding the development of promising HDTs that are expected to be useful for the clinical management of mycobacterial infections.