

総 説

クリプトコックス感染における防御免疫応答とその破綻

笠 松 純¹ 川 上 和 義^{1,2}

¹ 東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座

² 東北大学大学院医学系研究科感染分子病態解析学分野

要 旨

クリプトコックス症は *Cryptococcus neoformans* によって引き起こされる日和見真菌感染症である。免疫系が正常な健常者では不顕性感染となることが多いとされる。一方、免疫低下を伴う基礎疾患をもつ患者や免疫抑制剤を使用している患者では髄膜炎など重篤な疾患を引き起こす。免疫系は自然免疫系と適応免疫系に大別され、感染症を引き起こす病原体によって異なるリンパ球サブセットが生体防御を担う。本稿では、クリプトコックスに対する自然免疫応答と適応免疫応答について解説する。さらに、それら免疫系の破綻によって生じるクリプトコックスの内因性再燃についても紹介する。これらの知見は、クリプトコックス症に対する治療薬やワクチンを開発するための新しい視座を提供する。

Key words : cryptococcal infection, endogenous reactivation, host defense, lymphocyte subsets, signaling pathway, sphingosine-1-phosphate

はじめに

クリプトコックス症は *Cryptococcus neoformans* によって引き起こされる日和見真菌感染症である。免疫系が正常な健常者では不顕性感染となることが多いとされる。しかし、免疫低下を伴う基礎疾患（エイズ、糖尿病、膠原病、腎疾患、悪性疾患など）をもつ患者や免疫抑制剤を使用している患者では重篤なクリプトコックス症を引き起こす。特に、本真菌は高い中枢神経親和性をもつため、播種性感染による髄膜炎を発症する。

免疫系は自然免疫と適応免疫に大別され、感染症を引き起こす病原体によって異なるリンパ球サブセットが生体防御を担う。本稿では、クリプトコックス感染に対する自然免疫応答と適応免疫応答について解説する。さらに、それら免疫系の破綻によって生じるクリプトコックスの内因性再燃についても紹介する。

1. クリプトコックスを認識するパターン認識レセプター

適応免疫系は T 細胞や B 細胞が抗原特異的に活性化される免疫系であるのに対し、自然免疫系は迅速かつ抗原非特異的

に活性化される免疫系である。自然免疫系は病原体固有の分子構造である pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) がパターン認識レセプター (pattern-recognition receptor : PRR) と結合することで活性化される。PRR はその下流で炎症性サイトカインを誘導して自然免疫系を誘導するだけでなく、適応免疫系を活性化するために必須の役割を担う。PRR を介したシグナルは樹状細胞 (dendritic cell : DC) を活性化し、細胞表面に共刺激分子 (CD86 など) や主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex : MHC) の発現を誘導する。感染局所で病原体を取り込んだ DC は二次リンパ組織へ遊走し、MHC-T 細胞レセプター (T cell receptor : TCR) を介して T 細胞に抗原を提示する (シグナル 1)。加えて、PRR で誘導された共刺激分子からの刺激 (シグナル 2) と周辺のサイトカイン環境 (シグナル 3) によって、病原体に応じた抗原特異的 T 細胞サブセットが活性化される。

クリプトコックスはさまざまな PAMPs を内包しており、それぞれ異なる PRR が PAMPs の認識に与る¹⁾。主要なクリプトコックスの PAMPs とそれを認識する PRR を Table 1 に示す。クリプトコックスの PAMPs は大きく Toll 様受容体 (Toll-like receptor : TLR) と C 型レクチン受容体 (C-type lectin receptors : CLR) によって認識される。TLR はシヨウジョウバエで背腹軸の決定や真菌免疫に必要な分子として同

著者連絡先 : 笠松 純, PhD

〒 980-8575 宮城県仙台市青葉区青陵町 2-1

東北大学大学院医学系研究科感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座

[受付 : 2021 年 9 月 21 日, 受理 : 2022 年 3 月 7 日]

kasamatsu@med.tohoku.ac.jp

Table 1. Pattern recognition receptor (PRR) and pathogen-associated molecular pattern (PAMP) in *Cryptococcus* species

PRRs	Signaling pathway	PAMP	Localization of PAMP
TLR2	MyD88	Galactoxylomannan	Capsule
TLR4/CD14	MyD88/TICAM-1	Glucuronoxylomannan	Capsule
TLR9	MyD88	DNA	Nuclear
Dectin-1	CARD9	β -1,3-glucan Chitin	Cell wall Cell wall
Dectin-2	CARD9	Mannoprotein	Cell wall/ Capsule
Mincle	CARD9	β -GlcCer	Cell membrane
DC-SIGN	Various kinases	Mannoprotein	Cell wall/ Capsule
Mannose receptor	Unknown	Mannoprotein	Cell wall/ Capsule
NLRP3	ASC	Unknown	Cell wall (?)
NKp30	Syk/ZAP70	β -1,3-glucan	Cell wall

Abbreviations; TLR: Toll-like receptor, MyD88: myeloid differentiation primary response 88, TICAM-1: Toll-like receptor adaptor molecule 1, CARD9: caspase recruitment domain family member 9, DC-SIGN: dendritic cell-specific intracellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin, NLRP3: nod-like receptor pyrin domain containing 3, ASC: apoptosis-associated speck-like protein containing CARD, NK: natural killer, Syk: spleen associated tyrosine kinase, ZAP70: zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70.

定された Toll の哺乳類ホモログである²⁾。TLR は細胞外にロイシンリッチリピートが連なった馬蹄構造をもち、TLR2 や TLR4, TLR9 がクリプトコックスの認識に与る。TLR のシグナルはアダプター分子である myeloid differentiation primary response 88 (MyD88) や Toll-like receptor adaptor molecule 1 (TICAM-1) によって伝達される。TLR2 や TLR4 は細胞表面に発現され、クリプトコックスの莢膜に存在する galactoxylomannan や glucuronoxylomannan (GXM) を認識する。他方、著者らのグループはエンドソーム内に発現する TLR9 がクリプトコックス感染防御に寄与しており、*C. neoformans* がもつ病原遺伝子 *URA5* 由来 DNA を認識していることを明らかにした^{3, 4)}。

CLR は細胞外領域に糖鎖構造の認識に関与する carbohydrate recognition domains (CRDs) をもち、Dectin-1 や Dectin-2, macrophage inducible C-type lectin (Mincle), dendritic cell-specific intracellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin (DC-SIGN), mannose receptor (MR) がクリプトコックスの認識に関与する。この内、Dectin-1, Dectin-2 および Mincle のシグナルはアダプター分子である caspase recruitment domain family member 9 (CARD9) によって伝達される。Dectin-1 はクリプトコックスの細胞壁に存在する β -1,3-グルカンやキチンを認識する。著者らのグループは Dectin-2 がクリプトコックスの mannoproteins を認識し、DC の貪食能を亢進することを明らかにした^{5, 6)}。さらに、著者らのグループは Mincle がクリプトコックスの細胞表面に存在する糖脂質 β -glucosylceramide (β -GlcCer) を認識することを明らかにした⁷⁾。これら TLR や CLR の下流に存在する MyD88, TICAM-1 および CARD9 のシグナルは NF κ B を活性化し、炎症性サイトカインの遺伝子発現を誘導

することで自然免疫系を活性化する。個々の PRR の機能や PAMPs の種類については、佐藤らや石井らが詳細に解説しているため、それら総説も参照されたい^{8, 9)}。

ごく最近、環境の変化によってクリプトコックスの PAMPs 発現が変動することが報告されている。クリプトコックスの β -GlcCer 生合成は GlcCer synthase 1 (GCS1) 遺伝子により制御されており、野生株と GCS1 変異株を用いた経気道感染実験から、 β -GlcCer がクリプトコックスの病原性に必須であることが示されている¹⁰⁾。また、 β -GlcCer はさまざまな真菌種に存在しており、その投与により抗クリプトコックス免疫が誘導されることから、新しいワクチンターゲットとしても期待される¹¹⁾。Mor らと筆者らのグループはトルラ酵母由来 β -GlcCer を事前投与したマウスを用いてクリプトコックス感染実験を行ったところ、有意な生存率の向上と肺内菌数および脳内菌数の低下を認めた。これら β -GlcCer を免疫したマウスの血清中には抗 β -GlcCer 抗体が産生されていた。Rodrigues らはクリプトコックス感染症における抗 β -GlcCer 抗体の機能を調べるために、感染前に抗 β -GlcCer 抗体を投与したところ、先に示した例と同様に有意な生存率の向上と肺内菌数の低下を認めた¹²⁾。さらに、Rodrigues らはヒト抗 β -GlcCer 抗体がクリプトコックスの増殖を抑制することも示しており、 β -GlcCer ワクチンにより誘導された抗 β -GlcCer 抗体がクリプトコックスの増殖を抑制している可能性がある¹³⁾。Rhome らは β -GlcCer に対するモノクローナル抗体を作成し、低 pH 環境 (pH 4.0) 下よりも中性環境 (pH 7.2) 下において β -GlcCer 発現が上昇することを見出した¹⁴⁾。一方、Ueno らはクリプトコックスを培養する培地の違いで Dectin-1 のリガンドである β -1,3-グルカンの発現が変化することを見出した¹⁵⁾。 β -1,3-グルカンを高発現させ

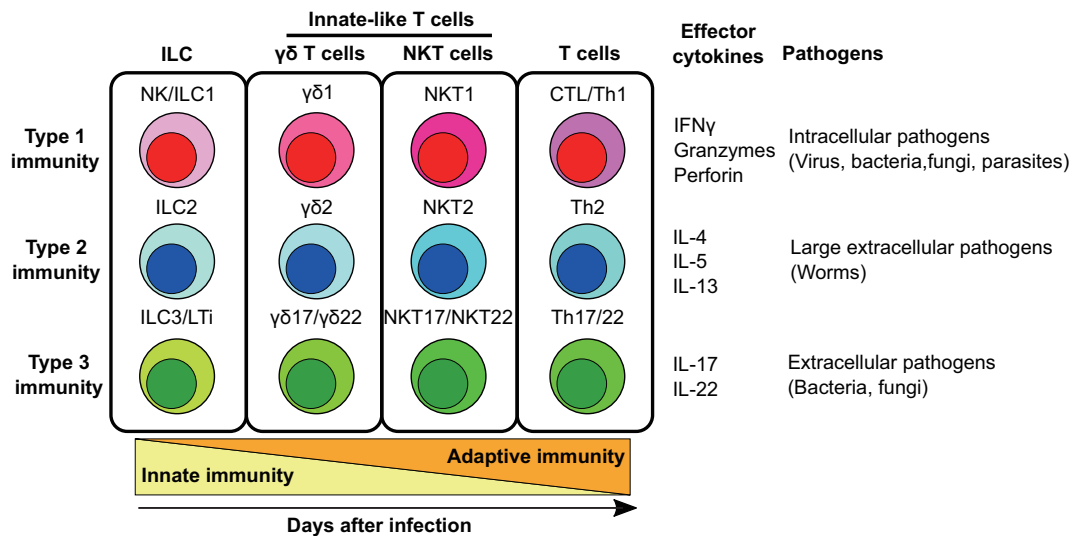


Fig. 1. Function of innate and adaptive lymphocyte subsets against pathogens.

Some of the most well-known immune function of each T cell and innate lymphoid cell (ILC) subset is shown. Gamma delta ($\gamma\delta$) T cells and natural killer T (NKT) cells are innate-like T (ILT) cells. ILC and ILT subsets and T cell subsets play a role in innate and adaptive immunity, respectively. Cytotoxic T lymphocytes (CTL), Th1, $\gamma\delta 1$ T cells, NKT1 cells, natural killer (NK) cells and ILC1s produce type 1 cytokine, such as IFN γ , and react to intracellular pathogens in type 1 immunity. CTL and NK cells eliminate infected cells by granzyme and perforin. Th2, $\gamma\delta 2$ T cells, NKT2 cells and ILC2s produce type 2 cytokines (IL-4, IL-5 and IL-13) and respond to large extracellular pathogens in type 2 immunity. Th17/Th22, $\gamma\delta 17/\gamma\delta 22$ T cells, NKT17/22 cells and ILC3/lymphoid tissue-inducer (LTI) cells produce type 3 cytokines (IL-17 and IL-22) and react to extracellular pathogens in type 3 immunity.

たクリプトコックスを用いて DC を刺激したところ、より強い炎症性サイトカインの産生誘導が認められた。

筆者らのグループは Mincle や Dectin-1 欠損マウスの解析から、それら PRR はクリプトコックス感染防御への寄与が非常に低いことを示してきた^{7, 16}。これは、クリプトコックスの細胞表面に存在している β -GlcCer や β -1,3-グルカンの量が非常に少なかった可能性がある。したがって、クリプトコックスの PAMPs 発現を調節することでより強い感染防御効果を誘導できる可能性があり、PAMPs の発現調節機構を逆手にとった新しいワクチンや治療薬開発への応用が期待できる。

2. 感染防御機構でみられる免疫応答：1型～3型免疫系

自然免疫系の活性化は自然免疫系に属する自然リンパ球 (innate lymphoid cell : ILC) と適応免疫系に属する T 細胞サブセットの活性化を誘導する。感染症に対する免疫系は大きく3つのタイプに分類され、それぞれ異なるリンパ球サブセットが機能する (Fig. 1)¹⁷⁻¹⁹。感染直後、ILC サブセットが病原体に応じたサイトカインを産生し、病原体の排除を担う。その後、適応免疫系に属する抗原特異的 T 細胞サブセットが出現し、さらに強力な感染免疫応答が誘導される。感染が終息すると、一部の T 細胞はメモリー細胞として維持され、再感染に備える。

1 型免疫系 (type 1 immunity) では interferon gamma (IFN γ) を介した免疫応答が重要である²⁰。産生された IFN γ は強い貪食・殺菌能を有する M1 マクロファージを誘導し、細胞

内病原体を殺菌する^{21, 22}。また、排除が困難な場合には肉芽腫を形成することで病原体を隔離する。IFN γ は MHC class I や免疫プロテアソームの発現を誘導し、細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) による病原体排除を促進する²³。自然免疫系が主体となる感染初期では、ILC に属する natural killer (NK) 細胞や type 1 ILC (ILC1)、さらに自然様 T (innate-like T : ILT) 細胞に属する type 1 $\gamma\delta$ ($\gamma\delta 1$) T 細胞や type 1 natural killer T (NKT1) 細胞が IFN γ を産生する。ILT 細胞に含まれる NKT 細胞と $\gamma\delta$ T 細胞は NK 細胞や ILC1 と異なり、多様性に乏しい TCR を発現する²⁴。しかしながら、感染に対して迅速に活性化することから、自然免疫系での役割が重要である。一方、適応免疫系が主体となる感染後期では、CTL や T-helper (Th) 1 細胞が IFN γ を産生する。また、NK 細胞と CTL はパーフォリンとグランザイムを介した強い細胞障害活性をもち、感染細胞のアポトーシスを誘導する。したがって、1 型免疫系はウイルスや細胞内寄生性細菌・真菌に有効な免疫応答である。

2 型免疫系 (type 2 immunity) では 2 型サイトカイン (IL-4, IL-5 および IL-13) を介した免疫応答が重要である²⁵。IL-4 は B 細胞における IgE へのクラススイッチを促進し、IgE を介した好酸球や好塩基球による抗寄生虫免疫を誘導する。また、IL-4 は IL-13 と共同して組織修復に寄与する M2 マクロファージの分化を促進するだけでなく、杯細胞の粘液産生や腸管の蠕動運動を促進する。IL-5 は好酸球の生存や増殖に寄与する。感染初期では type 2 ILC (ILC2) や type 2 $\gamma\delta$ ($\gamma\delta 2$) T 細胞や type 2 natural killer T (NKT2) 細胞が、感染後期では Th2 細胞が 2 型サイトカインを産生する。した

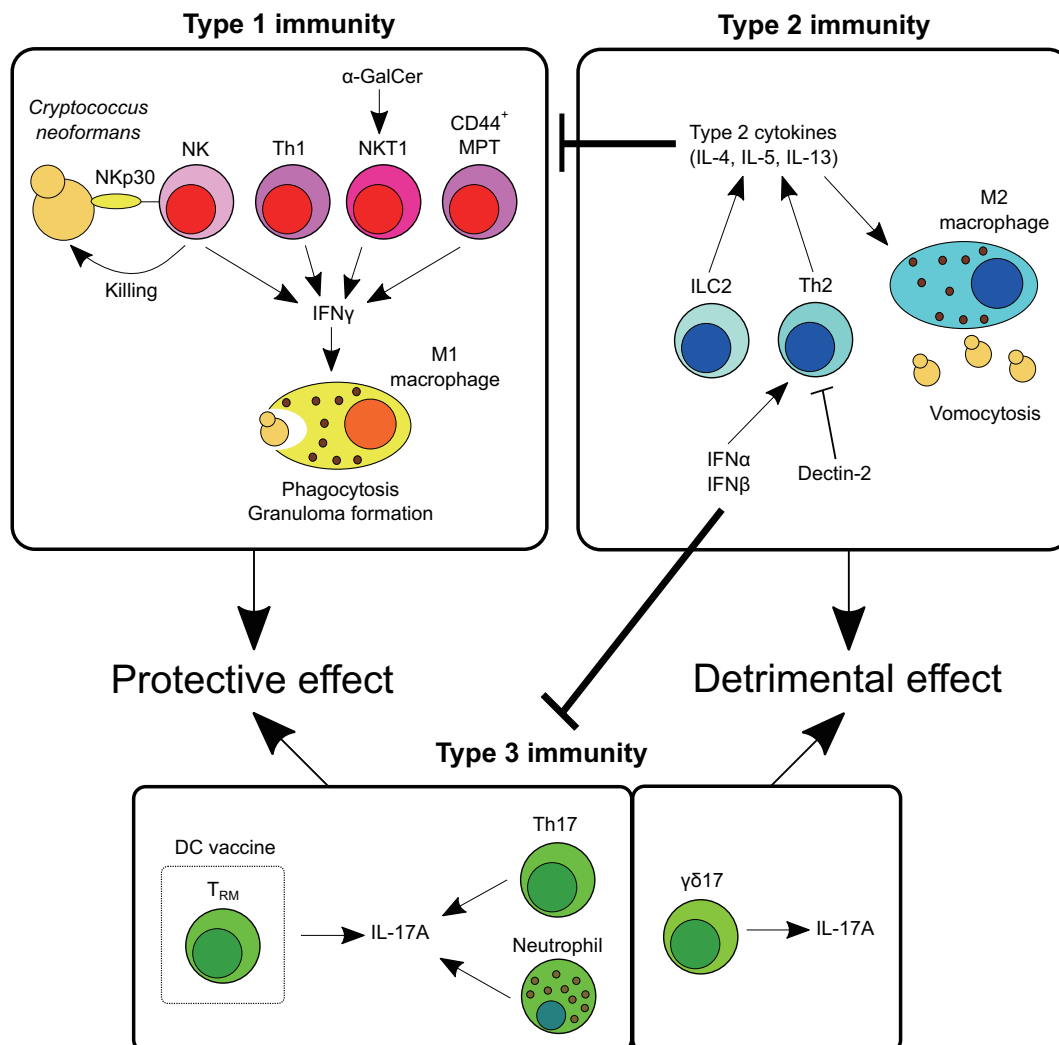


Fig. 2. Protective and detrimental effect of each immune system against cryptococcal infection.

Type 1 immunity shows protective effect against cryptococcal infection. Th1, NKT1 cells, NK cells and CD44⁺ memory phenotype T (MPT) cells produce IFN γ to induce M1 macrophages. M1 macrophages eliminate phagocytosis *Cryptococcus* species and is involved in granuloma formation. NK cells directly recognize β -1,3-glucan on cell wall via NKp30 and eliminate *Cryptococcus* species. Type 2 immunity shows detrimental effect against cryptococcal infection. Th2 and ILC2s produce type 2 cytokines (IL-4, IL-5 and IL-13) to suppress type 1 immunity and induce M2 macrophages. In M2 macrophage, *Cryptococcus* species escape from phagocyte degradation by vomocytosis. Type I interferon (IFN), such as IFN α and IFN β , promotes Th2 differentiation and suppress type 3 immunity. Dectin-2 pathway suppresses Th2 differentiation. Function of type 3 immunity remains active areas of debate. Th17, neutrophils and tissue-resident memory T cell (T_{RM}) produce IL-17A that show protective effect against cryptococcal infection (Ref. 51, 52 and 77). IL-17A producing T_{RM} is induced by dendritic cell (DC) vaccine *in vivo*. $\gamma\delta 17$ T cells produce IL-17A that detrimental effect against cryptococcal infection (Ref. 49).

がって、2型免疫系は蠕虫などの寄生虫感染に有効な免疫応答である。

3型免疫系 (type 3 immunity) では3型サイトカイン (IL-17やIL-22) を介した免疫応答が重要である²⁶⁾。IL-17は感染局所におけるケモカインの産生を誘導し、細胞外病原体を貪食する好中球を集積させる。また、IL-22は上皮細胞へ作用し、さまざまな抗菌ペプチドの産生を促進する。感染初期ではtype 3 ILC (ILC3) やtype 3 $\gamma\delta$ T細胞 ($\gamma\delta 17$ T細胞と $\gamma\delta 22$ T細胞) やtype 3 natural killer T (NKT3) 細胞が、感染後期ではTh17細胞やTh22細胞が3型サイトカインを産生す

る。したがって、3型免疫系は細胞外細菌・真菌に有効な免疫応答である。

3. クリプトコックスに対する1型免疫応答

クリプトコックスは細胞内増殖菌であり、マクロファージ内で増殖する。そのため、クリプトコックス感染症では、IFN γ を介したM1マクロファージによる貪食・殺菌や肉芽腫を促進する1型免疫応答が重要である (Fig. 2)^{27, 28)}。

著者らはクリプトコックス感染において、迅速にNK細胞

がIFN γ を産生し、IL-12とIL-18によるNK細胞の活性化がクリプトコックスの除去に寄与することを見出した^{29,30}。さらに、それらサイトカインによって活性化されたNK細胞がマクロファージの一酸化窒素(nitric oxide:NO)産生を増強することで、クリプトコックスを殺菌する³¹。最近、NK細胞が発現する新しいPRRとしてNKp30が同定された(Table 1)。NKp30はNK細胞で高発現し、広く脊椎動物で保存されているが、C57BL/6やBALB/cを含む多くのマウス系統では偽遺伝子化している^{32,33}。LiらはヒトNKp30が真菌の β -1,3-グルカンと結合し、NKp30を介してヒトNK細胞がクリプトコックスやカンジダを殺傷することを明らかにした^{34,35}。NK細胞が感染細胞やがん細胞を殺傷する際には、接着分子やNKレセプターを含む免疫シナプスが構築され、パーフォリンやグランザイムを介した細胞障害が生じる³⁶。NKp30を介してNK細胞とクリプトコックスの間でも免疫シナプスが構築され、細胞障害が促進される。したがって、NK細胞は直接的または間接的にクリプトコックス感染を抑制する。

クリプトコックス感染において、ILT細胞に属するNKT細胞と $\gamma\delta$ T細胞は対照的な役割を担う。著者らは①NKT細胞がTh1の分化を強く誘導すること、②DCのCD1dを介してNKT細胞のTCRへ抗原提示される α -GICer投与がIFN γ 産生を誘導し、抗クリプトコックス免疫が増強されることを見出した^{37,38}。一方、著者らの $\gamma\delta$ T細胞欠損マウス(TCR δ 欠損マウス)を用いた解析から、① $\gamma\delta$ T細胞欠損マウスでは1型免疫応答による菌体排除が亢進すること、②免疫抑制効果を示すTGF β の産生が増強されていたことを明らかにした³⁹。したがって、ILT細胞においてはNKT細胞と $\gamma\delta$ T細胞の活性化バランスが1型免疫応答を介したクリプトコックスの感染防御に重要である²⁷。

初期感染において、著者らはNK細胞だけではなく、CD44⁺T細胞からもIFN γ 産生されることを明らかにした²⁹。一般的にCD44はメモリーT細胞の細胞表面マーカーとして知られており、memory phenotype T cell (MPT)と命名されたこのT細胞サブセットはクリプトコックスと同様に細胞内寄生菌であるリステリア感染でも確認されている⁴⁰。著者らの解析から、MPTは①感染後3日からIFN γ が検出されること、②肺内リンパ球において主たるIFN γ 産生細胞であること、③CLRのアダプター分子であるCARD9依存的に誘導されることを明らかにした。近年、非免疫組織には感染が起きると迅速に活性化する組織常在性メモリーT細胞(tissue-resident memory T cell:T_{RM})が報告されている^{41,42}。T_{RM}は通常のメモリーT細胞と異なり、sphingosine 1-phosphate receptor (S1PR)1の発現を抑制するCD69を高発現することで非免疫組織へ常駐する。また、IL-7レセプターを高発現しており、組織内におけるT_{RM}の維持にはIL-7が必須である。肺において、CD8⁺T_{RM}は肺胞上皮細胞層に多く存在するのに対し、CD4⁺T_{RM}は上皮細胞層下に存在する。肺を含む非免疫組織に存在するCD8⁺T_{RM}は感染局所における迅速な免疫応答に関与し、IFN γ 産生を介して病原体排除を促進することが報告されている^{43,45}。一方、CD4⁺T_{RM}は誘導性気管支関連リンパ組織(inducible

bronchus-associated lymphoid tissues:iBALT)に形成に関与することが報告されている。iBALTは感染・非感染性炎症によって誘導されるリンパ組織であり、リンパ節と同様にB細胞領域やT細胞領域をもつ。特に、iBALT内には二次リンパ組織で産生される抗体よりも高いアフィニティーを有する抗体を産生するB細胞が分化することから、インフルエンザなどの感染免疫において重要な役割を担う^{46,47}。抗原特異的なB細胞のクラススイッチには濾胞性ヘルパーT(T follicular helper:Tfh)細胞によるCD40-CD40リガンド(CD40L)の相互作用やIL-21が必須である。Sonらはインフルエンザウイルス感染モデルにおいて、①CD4⁺T細胞がiBALTの形成に必須であること、②Tfhと同様にinducible T cell costimulator(ICOS)やprogrammed cell death 1(PD-1)を発現する肺CD4⁺T細胞がT_{RM}とTfhに類似した遺伝子発現を示すこと(これらの性質から、この細胞集団をTissue-resident Tfh細胞:T_{RH}と命名した。)、③T_{RH}がIL-21とCD40L依存的に抗原特異的CD8⁺T細胞やB細胞を活性化することを明らかにした⁴⁸。クリプトコックス感染はウイルス感染と同様に強い1型免疫応答を誘導することから、T_{RM}の関与も想定される。興味深いことに、通常T_{RM}は肺内に常駐して長期間維持されるのに対し、MPTは感染直後に増加することから、クリプトコックス感染におけるT_{RM}とMPTの比較研究が重要である。

4. クリプトコックスに対する2型免疫応答

クリプトコックス感染において、2型免疫応答の誘導は1型免疫応答を抑制し、感染拡大を引き起こす(Fig. 2)^{27,28}。また、2型免疫応答は1型免疫応答によるクリプトコックスの排除を阻害するだけでなく、誘導されたM2マクロファージはvomocytosisによって生きたクリプトコックスを細胞外へ放出することで感染を拡大する⁴⁹。最近の研究から、Th2だけではなくILC2もクリプトコックス感染における2型免疫応答を誘導することが報告された⁵⁰。KindermannらはILC2やTh2の分化に必須な転写因子であるretinoic acid receptor-related orphan receptor alpha(ROR α)を造血細胞特異的に欠損させたマウスを用いたクリプトコックス感染実験から、①2型サイトカイン産生が低下すること、②肺内菌数が低下すること、③ILC2の移入により肺内菌数が上昇することを明らかにした。

I型インターフェロン(IFN-I)はIFN α とIFN β に大別され、抗ウイルス応答を誘導する⁵¹。著者らは、クリプトコックス感染において、IFN-Iの発現が誘導されることを見出した⁵²。そこで、これらIFN-Iの機能を解析するために、IFN-Iレセプター(IFNAR1)欠損マウスを用いて解析したところ、IFN-Iが、①1型と3型免疫応答を抑制すること、②2型サイトカイン産生やTh2の分化を誘導することを明らかにした。クリプトコックスはさまざまな病原因子を有している⁵³。たとえば、莢膜の主要な構成成分であるGXMは強い免疫抑制効果を示すことから、クリプトコックス側の免疫回避機構として機能する⁵⁴。クリプトコックス感染におけるIFN-I産生経路は不明であるが、IFN-IはGXMと同様にク

Table 2. Studies to investigate the function of IL-17A and neutrophils

	Effects	Mouse strains	Cn strains (Serotype)	Depletion methods	Reference
IL-17A	Detrimental	C57BL/6	B3501 (D)	Gene Disruption	Ref. 49
	Protective	BALB/c	H99 γ (A)	IL-17A antibody	Ref. 51
	Protective	C57BL/6	52D (D)	Gene Disruption	Ref. 52
Neutrophils	Detrimental	BALB/c	24067 (D)	Gr-1 antibody	Ref. 58
	Protective	C57BL/6	H99 (A)	Ly6G antibody	Ref. 59
	Neutral	BALB/c	H99 γ (A)	Gr-1 and Ly6G antibodies	Ref. 60

Abbreviations; Cn: *Cryptococcus neoformans*.

リプトコックスの免疫回避機構として使用されている可能性がある。一方で、著者らはクリプトコックスにおけるDectin-2の機能解析から、Dectin-2欠損マウスでは2型サイトカイン発現とTh2の分化が促進されることを明らかにした⁵⁵。このことは、Dectin-2が2型免疫応答を抑制していることを示唆する。

病原体は宿主の免疫システムを回避する機構を進化させるが、宿主はさらにその回避機構を無効化する免疫システムを進化させる。イタチごっこのようなこの宿主と病原体の共進化による免疫レセプターの進化様式はカウンターバランス理論と呼ばれている⁵⁶。2型免疫応答はクリプトコックス排除を負に制御することから、宿主とクリプトコックスは共進化の過程で2型免疫応答を抑制する戦略と促進する戦略をそれぞれ獲得してきたと考えられる。

5. クリプトコックスに対する3型免疫応答

クリプトコックス感染症における3型免疫応答の役割は複雑であり、一定の結論を得ていない (Fig. 2)。本稿では3型免疫応答で重要な役割を担うIL-17と好中球を中心に紹介する。

IL-17は6つの遺伝子から構成される遺伝子ファミリーを形成している⁵⁷。IL-17AとIL-17Fは最も相同性が高く、それぞれホモダイマーやヘテロダイマーを形成し、IL-17レセプター (IL-17RAとIL-17RCのヘテロダイマー)と結合する。IL-17AとIL-17Fはそれぞれ感染症と炎症疾患での報告が多く、クリプトコックス感染症ではIL-17Aが主である。クリプトコックス感染において、IL-17AはIL-17産生CD8⁺T (Tc17)細胞やTh17細胞、ILC3、 $\gamma\delta$ 3T細胞など、さまざまなリンパ球から産生される^{58, 59}。著者らはCARD9欠損マウスを用いたクリプトコックス感染実験から、ILC3やTh17の分化に必須な転写因子ROR γ tやIL-23p19、IL-17Aの遺伝子発現が低下していることを見出しており、CARD9を経由するPRRがIL-17A産生に重要である (Table 1)²⁹。一方、MyD88欠損マウスを用いた感染実験では野生型と比較してIL-17A産生量に差が認められなかったことから、MyD88を経由するPRRの関与は低いことが示唆される⁶⁰。

著者らはクリプトコックス感染におけるIL-17Aの機能を調べるために、IL-17A欠損マウスを用いた解析を行った。その結果、IL-17Aは $\gamma\delta$ 17T細胞から産生され、1型免疫応答

を負に制御することでクリプトコックス感染を促進することを明らかにした⁵⁹。他方で、Wozniakらの報告によると、IL-17Aは好中球から産生され、IL-17A中和抗体を用いた感染実験からIL-17Aがクリプトコックス感染防御に寄与していることを報告している⁶¹。さらに、Murdockらは著者らと同様にIL-17A欠損マウスを用いた解析を行ったところ、IL-17AはTh17から産生され、IL-17Aがクリプトコックス感染防御に寄与していることを報告している⁶²。

好中球は強い貪食能をもつ免疫細胞であり、*Candida*属や*Aspergillus*属による真菌感染症では重要な役割を担う⁶³。*In vitro*の解析では、クリプトコックスに対して好中球が貪食・殺菌を行うことで菌体排除に寄与する報告がある反面、クリプトコックスがファゴソームにおける殺菌を受けずにエクソサイトーシスによって生きてそのまま好中球から逃避する現象も報告されている⁶⁴⁻⁶⁷。*In vivo*の解析では、好中球を除去するために抗Gr-1抗体や抗Ly6G抗体を用いた報告がある。Mednickらは抗Gr-1抗体を用いた解析を行い、好中球除去によってクリプトコックス感染後の生存率が向上することを明らかにしている⁶⁸。他方、Michaudらは抗Ly6G抗体を用いた解析を行い、好中球が補体成分であるC3依存的にクリプトコックスによる中枢神経播種を抑制していることを報告している⁶⁹。さらに、Wozniakらは前者の2グループと同様に抗Gr-1抗体と抗Ly6G抗体を用いた解析を行ったが、肺内におけるクリプトコックスの排除に好中球は関与しないことを報告している⁷⁰。

以上のことから、クリプトコックス感染におけるIL-17Aと好中球の役割にはさまざまな報告がなされており、一定の結論が得られていない。Table 2に示すように、これまでの報告を比較すると使用するマウスの系統やクリプトコックスの株が異なっている。クリプトコックス感染において、マウスの系統によって抵抗性が異なることや、クリプトコックスの血清型ごとに異なる免疫応答を誘導することが知られている^{28, 71, 72}。また、Gr-1やLy-6Gは好中球だけではなく、他の顆粒球やマクロファージなど他の免疫細胞にも発現されているため、それら抗体を用いた好中球除去によって他の免疫細胞も除去されてしまう。これらの要因が複合的にクリプトコックス感染におけるIL-17Aや好中球の機能解明を困難にしている可能性がある。

*Cryptococcus gattii*は*C. neoformans*と比較して、高い病原性をもつ^{73, 74}。その原因の一つとして、*C. gattii*の莢膜に

Table 3. Sphingosine 1-phosphate receptors and their expression and ligands

Receptor	T cell	B cell	NKC	Mac	Mo	Neu	Eos	MC	DC
S1PR1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S1PR2		+		+	+		+	+	
S1PR3		+		+	+	+	+	+	+
S1PR4	+	+		+	+	+	+	+	+
S1PR5			+				+	+	

Abbreviations; S1PR: sphingosine 1-phosphate receptor, NKC: natural killer cell, Mac: macrophage, Mo: monocyte, Neu: neutrophil, Eos: eosinophil, MC: mast cell, DC: dendritic cell. Modified by Bryan AM and Del Poeta M, 2018, Ref. 74.

存在する因子 (GXM など) による免疫回避や免疫抑制が指摘されている^{75, 76}。がん免疫療法の一つとして、DC ワクチン療法が知られている⁷⁷。DC ワクチンはがん抗原を取り込ませた DC を体内に戻すことで、がん特異的 T 細胞を効率的に誘導する免疫療法である。Ueno らは骨髄由来 DC (bone-marrow derived DC : BMDC) に *C. gattii* の荚膜欠損株を取り込ませた DC ワクチンが抗 *C. gattii* 免疫応答を誘導することを明らかにした⁷⁸。興味深いことに、この DC ワクチンは 1 型免疫応答と 3 型免疫応答を誘導するが、1 型免疫応答に重要な IFN γ は感染防御に寄与しない。さらに、Ueno らは DC ワクチンによる抗 *C. gattii* 免疫応答には Th17 に由来する T_{RM}が必要であり、IL-17A が肉芽腫形成や好中球の遊走に必要なことを明らかにした⁷⁹。このことは、DC ワクチンを用いた感染症予防には 3 型免疫応答が重要であることを示唆する。

6. クリプトコックスの潜伏感染と内因性再燃

結核菌は肉芽腫内で長年潜伏感染し、その後エイズや糖尿病などの免疫抑制状態で再活性化して発症する内因性再燃が知られている⁸⁰。近年の臨床研究から、結核と同様に免疫系の破綻が内因性再燃によるクリプトコックス症の発症を引き起こすことが示唆されている。たとえば、臓器移植後にクリプトコックス症を発症した患者では、移植前からクリプトコックスに対する抗体が検出されたのに対し、未発症患者ではほとんど抗体が検出されなかった⁸¹。したがって、移植後の免疫抑制剤使用が内因性再燃の引き金になった可能性がある。また、アフリカからフランスに移住して平均 110 ヶ月経過しているクリプトコックス症患者と、フランスに居住している患者から採取された *C. neoformans* の遺伝子型を比較すると、それぞれの地域でのクラスターを形成していた⁸²。このことは、アフリカを起源とするクリプトコックスが不顕性感染状態から内因性再燃により活性化し、クリプトコックス症が発症したことを示唆する。

7. S1P 経路を介した内因性再燃メカニズム

脂質分子スフィンゴシン 1 リン酸 (sphingosine 1-phosphate : S1P) はスフィンゴシンキナーゼを介して細胞膜構成成分スフィンゴミエリンから生合成され、免疫応答や血管

形成などさまざまな生命現象に関与する^{83, 84}。5 種類の S1PR が同定されており、免疫細胞ごとに発現する S1PR のパターンが異なる (Table 3)。S1P には構造的類似体であるアナログが存在しており、S1P と同様に S1PR に結合する (Fig. 3)。S1PR は 7 回膜貫通型の三量体の G タンパク質共役型受容体であり、3 種類の α サブユニット (G_i , $G_{12/13}$, G_q) と結合し、それら α サブユニットはさらに下流のシグナル分子を活性化する。S1PR1 は広く免疫細胞で発現しており、さまざまな免疫応答を調節している。S1PR1 特異的アゴニストである SEW2871 はマクロファージのアポトーシスを抑制する⁸⁵。また、S1PR1 特異的アゴニスト CYM-5442 は形質様 DC の IFNAR1 の分解を促進することで IFN-I の産生増強を抑制する⁸⁶。さらに、T 細胞においてもいくつかの機能が報告されている⁸⁷。S1PR1 欠損マウスを用いた解析から、S1PR1 が胸腺において制御性 T 細胞 (Treg) の分化を抑制していることが示されている⁸⁸。また、S1PR1 の機能欠損マウスを用いた解析から、実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルにおいて S1PR1 が自己反応性 Th17 の分化を抑制していることが報告されている⁸⁹。S1P アナログである FTY720 は S1PR2 以外の S1PR と高い親和性をもつ (Fig. 3)。FTY720 の添加によって、DC のエンドサイトーシスが抑制されるが、S1PR1 特異的アゴニストである SEW2871 では抑制されない⁹⁰。したがって、DC では S1PR3 または S1PR4 がエンドサイトーシスを抑制していることが示唆される。このように、S1P 経路は直接的、または間接的に免疫細胞の機能や分化を制御する。

S1P の最も有名な役割の一つに、T 細胞の遊走調節が挙げられる⁹¹。リンパ組織内の S1P 濃度は輸出リンパ管内にくらべて低くなっており、ナイーブ T 細胞や活性化したエフェクター T 細胞は S1PR1 と S1PR4 を介して S1P の濃度の高いリンパ管へ移動することで全身を循環する。生体内に投与された FTY720 はスフィンゴシンキナーゼによってリン酸化され、リン酸化された FTY720P が T 細胞の S1PR1 や S1PR4 と結合する。その結果、S1P の機能的アンタゴニストとして作用するため、T 細胞はリンパ組織から流出されない。このような作用機序から、FTY720 は自己反応性 T 細胞による多発性硬化症の治療薬として使用される⁹²。近年、FTY720 投与患者においてクリプトコックスによる髄膜脳炎を発症した例が報告されており、内因性再燃によるクリプトコックス症の発症が示唆される⁹³⁻⁹⁵。

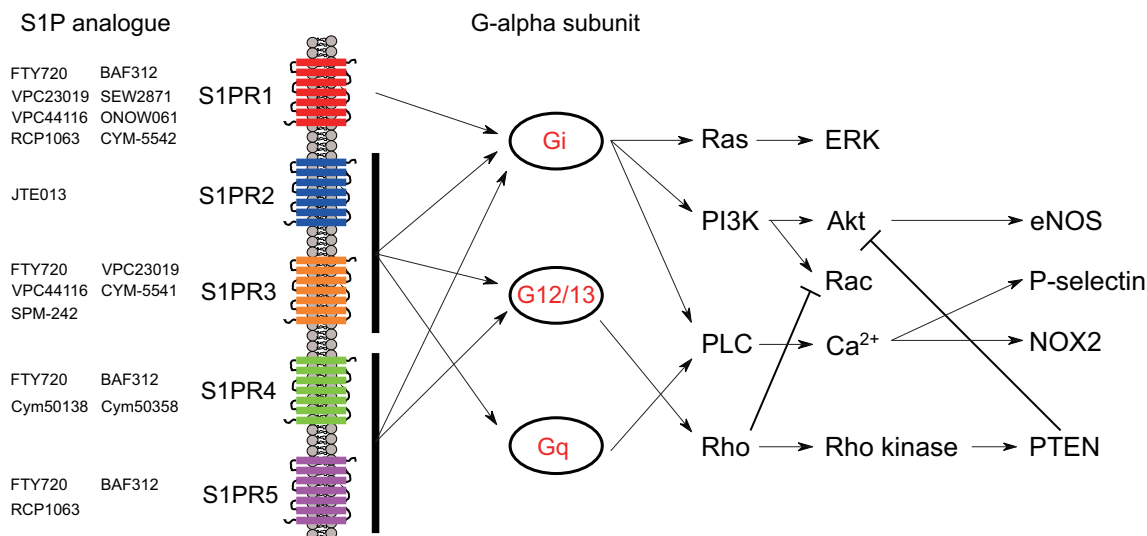


Fig. 3. Sphingosine-1-Phosphate receptors and its signaling pathway.

Sphingosine-1-phosphate (S1P) and its analogues bind to five S1P receptors (S1PRs), which are coupled to G proteins that affect cellular pathways. S1PRs interact with G alpha subunits Gi, G12/13, and Gq. These S1PR pathways activate Ras family small GTPase (Ras), PI3-kinase (PI3K), Phospholipase C (PLC) and Rho family of small GTPases (Rho) and their downstream signals. Abbreviations: ERK: Extracellular Receptor Kinase, Akt: protein kinase B, Rac: Rac family small GTPase, eNOS: Endothelial Nitric Oxide Synthase, Nox2: NADPH oxidase, PTEN: Phosphatase and tensin homolog.

Del Poeta らのグループは β -GlcCer 生合成経路の遺伝子を欠損した *C. neoformans* 変異株 ($\Delta gcs1$ 株) を用いた解析から、 $\Delta gcs1$ 株に対する肉芽腫形成には S1P 経路が重要であることを明らかにしてきた^{10, 96, 97}。さらに、Bryan らは $\Delta gcs1$ 株を長期感染させたマウスに FTY720 を投与することで、①生存率が低下すること、②肺と脳における菌体数が増加することを見出した⁹⁸。興味深いことに、S1PR1 や S1PR5 へ特異的に結合する BAF312 を投与した場合にはこのような変化が認められないことから、この実験系では S1PR1 や S1PR5 以外の S1PR の関与が示唆される。通常、排除しきれないクリプトコックスは肉芽腫によって隔離されるが、FTY720 投与群では M2 マクロファージが増加し、異常な肉芽腫が形成されていた。さらに、S1PR3 特異的のアゴニスト CYM5541 やアンタゴニスト TY52156 を用いた実験からマクロファージの貪食能や殺菌作用には S1PR3 経路が必要であることを明らかにした。したがって、FTY720 によるクリプトコックスの内因性再燃にはマクロファージの S1PR3 経路が重要な役割を担う。

クリプトコックスの内因性再燃に関する実験的検証は皆無である。特に、野生型クリプトコックス株を使用した長期感染モデルはなく、そのような実験系の確立が内因性再燃機構の解明に必須である。また前述したように、FTY720 はさまざまな免疫応答を制御するため、FTY720 を介した新しい内因性再燃機構が存在することは容易に想像できる。さらに、臨床では FTY720 とは作用機序の異なるさまざまな免疫抑制剤が使用される。したがって、そのような免疫抑制剤投与に起因する内因性再燃機構の解明にはより詳細な検討が必要である。

おわりに

本稿では、最新の研究成果を中心にクリプトコックスに対する自然免疫応答と適応免疫応答、またその破綻が引き起こすクリプトコックスの内因性再燃について解説した。クリプトコックスに対する新しい PRR が同定されるだけでなく、その役割や発現細胞も多様化しており、今後も新しい PRR の発見が期待される。また、クリプトコックスに対する 3 型免疫応答に関する知見が蓄積してきたものの、その役割には統一した見解が得られておらず、クリプトコックス感染症における 3 型免疫応答の役割には更なる研究を要する。他方、臨床研究からクリプトコックスの内因性再燃を示唆する知見が蓄積しつつある。免疫抑制剤ごとに作用機序が異なることから、制御される宿主の免疫応答も異なる。したがって、それら免疫抑制剤を用いた動物実験モデルの確立は複雑な内因性再燃機構の解明に必須である。これらの知見は、クリプトコックス感染症に対する治療薬やワクチンを開発するための新しい視座を提供する。

謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金 基盤研究 (B) (18H02851, 21H02965), AMED 戦略的国際共同研究プログラム (SICORP) 日・英国共同研究 (JP19jm0210073, JP20jm0210073, JP21jm0210073) において行われた。

利益相反

本論文に関して、著者らに開示すべき利益相反関連事項はない。

本論文の要旨は、第64回日本医真菌学会・学術集会、シンポジウム2（2020年10月10日、東京）において報告した。

文 献

- 1) Campuzano A, Wormley FL: Innate immunity against *Cryptococcus*, from recognition to elimination. *J Fungi (Basel)* **4**: 33, 2018.
- 2) Leulier F, Lemaitre B: Toll-like receptors—taking an evolutionary approach. *Nat Rev Genet* **9**: 165-178, 2008.
- 3) Tanaka M, Ishii K, Nakamura Y, Miyazato A, Maki A, Abe Y, Miyasaka T, Yamamoto H, Akahori Y, Fue M, Takahashi Y, Kanno E, Maruyama R, Kawakami K: Toll-like receptor 9-dependent activation of bone marrow-derived dendritic cells by *URA5* DNA from *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* **80**: 778-786, 2012.
- 4) Nakamura K, Miyazato A, Xiao G, et al: Deoxynucleic acids from *Cryptococcus neoformans* activate myeloid dendritic cells via a TLR9-dependent pathway. *J Immunol* **180**: 4067-4074, 2008.
- 5) Tanno D, Yokoyama R, Kawamura K, et al: Dectin-2-mediated signaling triggered by the cell wall polysaccharides of *Cryptococcus neoformans*. *Microbiol Immunol* **63**: 500-512, 2019.
- 6) Kitai Y, Sato K, Tanno D, Yuan X, Umeki A, Kasamatsu J, Kanno E, Tanno H, Hara H, Yamasaki S, Saijo S, Iwakura Y, Ishii K, Kawakami K: Role of Dectin-2 in the phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* by dendritic cells. *Infect Immun* **89**: e0033021, 2021.
- 7) Sato Y, Sato K, Yamamoto H, et al: Limited role of mincle in the host defense against infection with *Cryptococcus deneoformans*. *Infect Immun* **88**: e00400-20, 2020.
- 8) Sato K, Kawakami K: Recognition of *Cryptococcus neoformans* by pattern recognition receptors and its role in host defense to this infection. *Med Mycol J* **58**: J83-J90, 2017. [Article in Japanese]
- 9) Ishii K, Kawakami K: Pattern recognition and host defense response to *Cryptococcus neoformans*. *Med Mycol J* **53**: 247-254, 2012. [Article in Japanese]
- 10) Rittershaus PC, Kechichian TB, Allegood JC, Merrill AH Jr, Hennig M, Luberto C, Del Poeta M: Glucosylceramide synthase is an essential regulator of pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Invest* **116**: 1651-1659, 2006.
- 11) Mor V, Farnoud AM, Singh A, Rella A, Tanno H, Ishii K, Kawakami K, Sato T, Del Poeta M: Glucosylceramide administration as a vaccination strategy in mouse models of cryptococcosis. *PLoS One* **11**: e0153853, 2016.
- 12) Rodrigues ML, Shi L, Barreto-Bergter E, Nimrichter L, Farias SE, Rodrigues EG, Travassos LR, Nosanchuk JD: Monoclonal antibody to fungal glucosylceramide protects mice against lethal *Cryptococcus neoformans* infection. *Clin Vaccine Immunol* **14**: 1372-1376, 2007.
- 13) Rodrigues ML, Travassos LR, Miranda KR, Franzen AJ, Rozental S, de Souza W, Alviano CS, Barreto-Bergter E: Human antibodies against a purified glucosylceramide from *Cryptococcus neoformans* inhibit cell budding and fungal growth. *Infect Immun* **68**: 7049-7060, 2000.
- 14) Rhome R, Singh A, Kechichian T, Drago M, Morace G, Luberto C, Del Poeta M: Surface localization of glucosylceramide during *Cryptococcus neoformans* infection allows targeting as a potential antifungal. *PLoS One* **6**: e15572, 2011.
- 15) Ueno K, Otani Y, Yanagihara N, Nakamura T, Shimizu K, Yamagoe S, Miyazaki Y: *Cryptococcus gattii* alters immunostimulatory potential in response to the environment. *PLoS One* **14**: e0220989, 2019.
- 16) Nakamura K, Kinjo T, Saijo S, Miyazato A, Adachi Y, Ohno N, Fujita J, Kaku M, Iwakura Y, Kawakami K: Dectin-1 is not required for the host defense to *Cryptococcus neoformans*. *Microbiol Immunol* **51**: 1115-1119, 2007.
- 17) Eberl G, Colonna M, Di Santo JP, McKenzie AN: Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. *Science* **348**: aaa6566, 2015.
- 18) Caccamo N, Todaro M, Sireci G, Meraviglia S, Stassi G, Dieli F: Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of human $\gamma\delta$ T cells. *Cell Mol Immunol* **10**: 30-34, 2013.
- 19) Crosby CM, Kronenberg M: Tissue-specific functions of invariant natural killer T cells. *Nat Rev Immunol* **18**: 559-574, 2018.
- 20) Kawakami K: Promising immunotherapies with Th1-related cytokines against infectious diseases. *J Infect Chemother* **9**: 201-209, 2003.
- 21) Davis MJ, Tsang TM, Qiu Y, Dayrit JK, Freij JB, Huffnagle GB, Olszewski MA: Macrophage M1/M2 polarization dynamically adapts to changes in cytokine microenvironments in *Cryptococcus neoformans* infection. *mBio* **4**: e00264-13, 2013.
- 22) Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, et al: Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity* **41**: 14-20, 2014.
- 23) Murata S, Takahama Y, Kasahara M, Tanaka K: The immunoproteasome and thymoproteasome: functions, evolution and human disease. *Nat Immunol* **19**: 923-931, 2018.
- 24) Van Kaer L, Postoak JL, Wang C, Yang G, Wu L: Innate, innate-like and adaptive lymphocytes in the pathogenesis of MS and EAE. *Cell Mol Immunol* **16**: 531-539, 2019.
- 25) Harris NL, Loke P: Recent advances in type-2-cell-mediated immunity: insights from helminth infection. *Immunity* **47**: 1024-1036, 2017.
- 26) Eyerich K, Dimartino V, Cavani A: IL-17 and IL-22 in immunity: driving protection and pathology. *Eur J Immunol* **47**: 607-614, 2017.
- 27) Kawakami K: Regulation by innate immune T lymphocytes in the host defense against pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *Jpn J Infect Dis* **57**: 137-145, 2004.
- 28) Normile TG, Bryan AM, Del Poeta M: Animal models of *Cryptococcus neoformans* in identifying immune parameters associated with primary infection and reactivation of latent infection. *Front Immunol* **11**: 581750, 2020.
- 29) Yamamoto H, Nakamura Y, Sato K, Takahashi Y, Nomura T, Miyasaka T, Ishii K, Hara H, Yamamoto N, Kanno E, Iwakura Y, Kawakami K: Defect of CARD9 leads to impaired accumulation of gamma interferon-producing memory phenotype T cells in lungs and increased susceptibility to pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* **82**: 1606-1615, 2014.
- 30) Qureshi MH, Zhang T, Koguchi Y, Nakashima K, Okamura H, Kurimoto M, Kawakami K: Combined effects of IL-12 and IL-18 on the clinical course and local cytokine production in

- murine pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *Eur J Immunol* **29**: 643-649, 1999.
- 31) Kawakami K, Koguchi Y, Qureshi MH, Yara S, Kinjo Y, Uezu K, Saito A: NK cells eliminate *Cryptococcus neoformans* by potentiating the fungicidal activity of macrophages rather than by directly killing them upon stimulation with IL-12 and IL-18. *Microbiol Immunol* **44**: 1043-1050, 2000.
 - 32) Hollyoake M, Campbell RD, Aguado B: *NKp30 (NCR3)* is a pseudogene in 12 inbred and wild mouse strains, but an expressed gene in *Mus caroli*. *Mol Biol Evol* **22**: 1661-1672, 2005.
 - 33) Flajnik MF, Tlapakova T, Criscitiello MF, Krylov V, Ohta Y: Evolution of the B7 family: co-evolution of B7H6 and NKp30, identification of a new B7 family member, B7H7, and of B7's historical relationship with the MHC. *Immunogenetics* **64**: 571-590, 2012.
 - 34) Li SS, Ogbomo H, Mansour MK, Xiang RF, Szabo L, Munro F, Mukherjee P, Mariuzza RA, Amrein M, Vyas JM, Robbins SM, Mody CH: Identification of the fungal ligand triggering cytotoxic PRR-mediated NK cell killing of *Cryptococcus* and *Candida*. *Nat Commun* **9**: 751, 2018.
 - 35) Li SS, Kyei SK, Timm-McCann M, Ogbomo H, Jones GJ, Shi M, Xiang RF, Oykhman P, Huston SM, Islam A, Gill MJ, Robbins SM, Mody CH: The NK receptor NKp30 mediates direct fungal recognition and killing and is diminished in NK cells from HIV-infected patients. *Cell Host Microbe* **14**: 387-397, 2013.
 - 36) Orange JS: Formation and function of the lytic NK-cell immunological synapse. *Nat Rev Immunol* **8**: 713-725, 2008.
 - 37) Kawakami K, Kinjo Y, Yara S, Koguchi Y, Uezu K, Nakayama T, Taniguchi M, Saito A: Activation of $V\alpha 14^+$ natural killer T cells by α -galactosylceramide results in development of Th1 response and local host resistance in mice infected with *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* **69**: 213-220, 2001.
 - 38) Kawakami K, Kinjo Y, Uezu K, Yara S, Miyagi K, Koguchi Y, Nakayama T, Taniguchi M, Saito A: Monocyte chemoattractant protein-1-dependent increase of $V\alpha 14$ NKT cells in lungs and their roles in Th1 response and host defense in cryptococcal infection. *J Immunol* **167**: 6525-6532, 2001.
 - 39) Uezu K, Kawakami K, Miyagi K, Kinjo Y, Kinjo T, Ishikawa H, Saito A: Accumulation of $\gamma\delta$ T cells in the lungs and their regulatory roles in Th1 response and host defense against pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *J Immunol* **172**: 7629-7634, 2004.
 - 40) Umeda K, Sun X, Guo Y, Yamada H, Shibata K, Yoshikai Y: Innate memory phenotype $CD4^+$ T cells play a role in early protection against infection by *Listeria monocytogenes* in a CD30L-dependent manner. *Microbiol Immunol* **55**: 645-656, 2011.
 - 41) Takamura S: Niches for the long-term maintenance of tissue-resident memory T cells. *Front Immunol* **9**: 1214, 2018.
 - 42) Mueller SN, Mackay LK: Tissue-resident memory T cells: local specialists in immune defence. *Nat Rev Immunol* **16**: 79-89, 2016.
 - 43) Schenkel JM, Fraser KA, Beura LK, Pauken KE, Vezyz V, Masopust D: Resident memory CD8 T cells trigger protective innate and adaptive immune responses. *Science* **346**: 98-101, 2014.
 - 44) Schenkel JM, Fraser KA, Vezyz V, Masopust D: Sensing and alarm function of resident memory $CD8^+$ T cells. *Nat Immunol* **14**: 509-513, 2013.
 - 45) McMaster SR, Wilson JJ, Wang H, Kohlmeier JE: Airway-resident memory CD8 T cells provide antigen-specific protection against respiratory virus challenge through rapid IFN- γ production. *J Immunol* **195**: 203-209, 2015.
 - 46) Hwang JY, Randall TD, Silva-Sanchez A: Inducible bronchus-associated lymphoid tissue: taming inflammation in the lung. *Front Immunol* **7**: 258, 2016.
 - 47) Adachi Y, Onodera T, Yamada Y, Daio R, Tsuiji M, Inoue T, Kobayashi K, Kurosaki T, Ato M, Takahashi Y: Distinct germinal center selection at local sites shapes memory B cell response to viral escape. *J Exp Med* **212**: 1709-1723, 2015.
 - 48) Son YM, Cheon IS, Wu Y, Li C, Wang Z, Gao X, Chen Y, Takahashi Y, Fu YX, Dent AL, Kaplan MH, Taylor JJ, Cui W, Sun J: Tissue-resident $CD4^+$ T helper cells assist the development of protective respiratory B and $CD8^+$ T cell memory responses. *Sci Immunol* **6**: eabb6852, 2021.
 - 49) Cruz-Acuña M, Pacifici N, Lewis JS: Vomocytosis: too much booze, base, or calcium? *mBio* **10**: e02526-19, 2019.
 - 50) Kindermann M, Knipfer L, Obermeyer S, Müller U, Alber G, Bogdan C, Schleicher U, Neurath MF, Wirtz S: Group 2 innate lymphoid cells (ILC2) suppress beneficial type 1 immune responses during pulmonary cryptococcosis. *Front Immunol* **11**: 209, 2020.
 - 51) Negishi H, Taniguchi T, Yanai H: The interferon (IFN) class of cytokines and the IFN regulatory factor (IRF) transcription factor family. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **10**: a028423, 2018.
 - 52) Sato K, Yamamoto H, Nomura T, Matsumoto I, Miyasaka T, Zong T, Kanno E, Uno K, Ishii K, Kawakami K: *Cryptococcus neoformans* infection in mice lacking type I interferon signaling leads to increased fungal clearance and IL-4-dependent mucin production in the lungs. *PLoS One* **10**: e0138291, 2015.
 - 53) Zaragoza O: Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. *Virulence* **10**: 490-501, 2019.
 - 54) Monari C, Bistoni F, Vecchiarelli A: Glucuronoxylomannan exhibits potent immunosuppressive properties. *FEMS Yeast Res* **6**: 537-542, 2006.
 - 55) Nakamura Y, Sato K, Yamamoto H, Matsumura K, Matsumoto I, Nomura T, Miyasaka T, Ishii K, Kanno E, Tachi M, Yamasaki S, Saijo S, Iwakura Y, Kawakami K: Dectin-2 deficiency promotes Th2 response and mucin production in the lungs after pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* **83**: 671-681, 2015.
 - 56) Barclay AN, Hatherley D: The counterbalance theory for evolution and function of paired receptors. *Immunity* **29**: 675-678, 2008.
 - 57) Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S: Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity* **34**: 149-162, 2011.
 - 58) Wiesner DL, Smith KD, Kashem SW, Bohjanen PR, Nielsen K: Different lymphocyte populations direct dichotomous eosinophil or neutrophil responses to pulmonary *Cryptococcus* infection. *J Immunol* **198**: 1627-1637, 2017.
 - 59) Sato K, Yamamoto H, Nomura T, et al: Production of IL-17A at innate immune phase leads to decreased Th1 immune response and attenuated host defense against infection with *Cryptococcus deneoformans*. *J Immunol* **205**: 686-698, 2020.

- 60) Wang JP, Lee CK, Akalin A, Finberg RW, Levitz SM: Contributions of the MyD88-dependent receptors IL-18R, IL-1R, and TLR9 to host defenses following pulmonary challenge with *Cryptococcus neoformans*. *PLoS One* **6**: e26232, 2011.
- 61) Wozniak KL, Hardison SE, Kolls JK, Wormley FL: Role of IL-17A on resolution of pulmonary *C. neoformans* infection. *PLoS One* **6**: e17204, 2011.
- 62) Murdock BJ, Huffnagle GB, Olszewski MA, Osterholzer JJ: Interleukin-17A enhances host defense against cryptococcal lung infection through effects mediated by leukocyte recruitment, activation, and gamma interferon production. *Infect Immun* **82**: 937-948, 2014.
- 63) Desai JV, Lionakis MS: The role of neutrophils in host defense against invasive fungal infections. *Curr Clin Microbiol Rep* **5**: 181-189, 2018.
- 64) Yang X, Wang H, Hu F, Chen X, Zhang M: Nonlytic exocytosis of *Cryptococcus neoformans* from neutrophils in the brain vasculature. *Cell Commun Signal* **17**: 117, 2019.
- 65) Feldmesser M, Kress Y, Novikoff P, Casadevall A: *Cryptococcus neoformans* is a facultative intracellular pathogen in murine pulmonary infection. *Infect Immun* **68**: 4225-4237, 2000.
- 66) Mambula SS, Simons ER, Hastey R, Selsted ME, Levitz SM: Human neutrophil-mediated nonoxidative antifungal activity against *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun* **68**: 6257-6264, 2000.
- 67) Ueno K, Yanagihara N, Otani Y, Shimizu K, Kinjo Y, Miyazaki Y: Neutrophil-mediated antifungal activity against highly virulent *Cryptococcus gattii* strain R265. *Med Mycol* **57**: 1046-1054, 2019.
- 68) Mednick AJ, Feldmesser M, Rivera J, Casadevall A: Neutropenia alters lung cytokine production in mice and reduces their susceptibility to pulmonary cryptococcosis. *Eur J Immunol* **33**: 1744-1753, 2003.
- 69) Michaud JP, Bellavance MA, Préfontaine P, Rivest S: Real-time *in vivo* imaging reveals the ability of monocytes to clear vascular amyloid beta. *Cell Rep* **5**: 646-653, 2013.
- 70) Wozniak KL, Kolls JK, Wormley FL Jr: Depletion of neutrophils in a protective model of pulmonary cryptococcosis results in increased IL-17A production by gamma/delta T cells. *BMC Immunol* **13**: 65, 2012.
- 71) Zaragoza O, Alvarez M, Telzak A, Rivera J, Casadevall A: The relative susceptibility of mouse strains to pulmonary *Cryptococcus neoformans* infection is associated with pleiotropic differences in the immune response. *Infect Immun* **75**: 2729-2739, 2007.
- 72) Van Dyke MCC, Chaturvedi AK, Hardison SE, Leopold Wager CM, Castro-Lopez N, Hole CR, Wozniak KL, Wormley FL Jr: Induction of broad-spectrum protective immunity against disparate *Cryptococcus* serotypes. *Front Immunol* **8**: 1359, 2017.
- 73) Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, Geunes-Boyer SG, Wright JR, Diezmann S, Allen A, Stajich JE, Dietrich FS, Perfect JR, Heitman J: Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. *Nature* **437**: 1360-1364, 2005.
- 74) Ngamskulrungron P, Chang Y, Sionov E, Kwon-Chung KJ: The primary target organ of *Cryptococcus gattii* is different from that of *Cryptococcus neoformans* in a murine model. *mBio* **3**: e00103-12, 2012.
- 75) Springer DJ, Ren P, Raina R, Dong Y, Behr MJ, McEwen BF, Bowser SS, Samsonoff WA, Chaturvedi S, Chaturvedi V: Extracellular fibrils of pathogenic yeast *Cryptococcus gattii* are important for ecological niche, murine virulence and human neutrophil interactions. *Plos One* **5**: e10978, 2010.
- 76) Yauch LE, Lam JS, Levitz SM: Direct inhibition of T-cell responses by the *Cryptococcus* capsular polysaccharide glucuronoxylomannan. *Plos Pathog* **2**: e120, 2006.
- 77) Perez CR, De Palma M: Engineering dendritic cell vaccines to improve cancer immunotherapy. *Nat Commun* **10**: 5408, 2019.
- 78) Ueno K, Kinjo Y, Okubo Y, et al: Dendritic cell-based immunization ameliorates pulmonary infection with highly virulent *Cryptococcus gattii*. *Infect Immun* **83**: 1577-1586, 2015.
- 79) Ueno K, Urai M, Sadamoto S, Shinozaki M, Takatsuka S, Abe M, Otani Y, Yanagihara N, Shimizu K, Iwakura Y, Shibuya K, Miyazaki Y, Kinjo Y: A dendritic cell-based systemic vaccine induces long-lived lung-resident memory Th17 cells and ameliorates pulmonary mycosis. *Mucosal Immunol* **12**: 265-276, 2019.
- 80) Pirofski LA, Casadevall A: The state of latency in microbial pathogenesis. *J Clin Invest* **130**: 4525-4531, 2020.
- 81) Saha DC, Goldman DL, Shao X, Casadevall A, Husain S, Limaye AP, Lyon M, Somani J, Pursell K, Pruett TL, Singh N: Serologic evidence for reactivation of cryptococcosis in solid-organ transplant recipients. *Clin Vaccine Immunol* **14**: 1550-1554, 2007.
- 82) Garcia-Hermoso D, Janbon G, Dromer F: Epidemiological evidence for dormant *Cryptococcus neoformans* infection. *J Clin Microbiol* **37**: 3204-3209, 1999.
- 83) Cartier A, Hla T: Sphingosine 1-phosphate: lipid signaling in pathology and therapy. *Science* **366**: eaar5551, 2019.
- 84) Bryan AM, Del Poeta M: Sphingosine-1-phosphate receptors and innate immunity. *Cell Microbiol* **20**: e12836, 2018.
- 85) Gonzalez L, Qian AS, Tahir U, Yu P, Trigatti BL: Sphingosine-1-phosphate receptor 1, expressed in myeloid cells, slows diet-induced atherosclerosis and protects against macrophage apoptosis in *Ldlr* KO mice. *Int J Mol Sci* **18**: 2721, 2017.
- 86) Tejjaro JR, Studer S, Leaf N, Kioussis WB, Nguyen N, Matsuki K, Negishi H, Taniguchi T, Oldstone MB, Rosen H: S1PR1-mediated IFNAR1 degradation modulates plasmacytoid dendritic cell interferon- α autoamplification. *Proc Natl Acad Sci U S A* **113**: 1351-1356, 2016.
- 87) Garris CS, Blaho VA, Hla T, Han MH: Sphingosine-1-phosphate receptor 1 signalling in T cells: trafficking and beyond. *Immunology* **142**: 347-353, 2014.
- 88) Liu G, Burns S, Huang G, Boyd K, Proia RL, Flavell RA, Chi H: The receptor S1P₁ overrides regulatory T cell-mediated immune suppression through Akt-mTOR. *Nat Immunol* **10**: 769-777, 2009.
- 89) Garris CS, Wu L, Acharya S, et al: Defective sphingosine 1-phosphate receptor 1 (S1P₁) phosphorylation exacerbates T_H 17-mediated autoimmune neuroinflammation. *Nat Immunol* **14**: 1166-1172, 2013.
- 90) Maeda Y, Matsuyuki H, Shimano K, Kataoka H, Sugahara K, Chiba K: Migration of CD4 T cells and dendritic cells toward sphingosine 1-phosphate (S1P) is mediated by different receptor subtypes: S1P regulates the functions of murine mature dendritic cells via S1P receptor type 3. *J Immunol* **178**:

- 3437-3446, 2007.
- 91) Baeyens A, Fang V, Chen C, Schwab SR: Exit strategies: S1P signaling and T cell migration. *Trends Immunol* **36**: 778-787, 2015.
- 92) Brinkmann V, Billich A, Baumruker T, Heining P, Schmouder R, Francis G, Aradhye S, Burtin P: Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov* **9**: 883-897, 2010.
- 93) Achtnichts L, Obreja O, Conen A, Fux CA, Nedeltchev K: Cryptococcal meningoencephalitis in a patient with multiple sclerosis treated with fingolimod. *JAMA Neurol* **72**: 1203-1205, 2015.
- 94) Seto H, Nishimura M, Minamiji K, Miyoshi S, Mori H, Kanazawa K, Yasuda H: Disseminated cryptococcosis in a 63-year-old patient with multiple sclerosis treated with fingolimod. *Intern Med* **55**: 3383-3386, 2016.
- 95) Ward MD, Jones DE, Goldman MD: Cryptococcal meningitis after fingolimod discontinuation in a patient with multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord* **9**: 47-49, 2016.
- 96) McQuiston T, Luberto C, Del Poeta M: Role of host sphingosine kinase 1 in the lung response against cryptococcosis. *Infect Immun* **78**: 2342-2352, 2010.
- 97) Farnoud AM, Bryan AM, Kechichian T, Luberto C, Del Poeta M: The granuloma response controlling cryptococcosis in mice depends on the sphingosine kinase 1-sphingosine 1-phosphate pathway. *Infect Immun* **83**: 2705-2713, 2015.
- 98) Bryan AM, You JK, McQuiston T, Lazzarini C, Qiu Z, Sheridan B, Nuesslein-Hildesheim B, Del Poeta M: FTY720 reactivates cryptococcal granulomas in mice through S1P receptor 3 on macrophages. *J Clin Invest* **130**: 4546-4560, 2020.

Immune System to Cryptococcal Infection and Immune Dysfunction Leading to Putative Endogenous Reactivation

Jun Kasamatsu¹ and Kazuyoshi Kawakami^{1,2}

¹ Department of Intelligent Network for Infection Control, Tohoku University Graduate School of Medicine

² Department of Medical Microbiology, Mycology and Immunology, Tohoku University Graduate School of Medicine

Cryptococcosis is an opportunistic infectious disease caused by *Cryptococcus neoformans*. Healthy individuals frequently undergo asymptomatic infection, whereas patients with immunodeficiency disorders or treated with immunosuppressants often suffer from severe cryptococcosis. The immune system is divided into two types; namely, innate and adaptive immunity. In these immune systems, distinct lymphocyte subsets are involved in the host defense in a pathogen-dependent manner. Here we review the innate and adaptive immune responses against cryptococcal infection. Moreover, we also review endogenous reactivation by *C. neoformans* due to impaired cell-mediated immunity. These findings provide new insights for the development of novel therapeutic agents and vaccines against cryptococcal infection.

Key words : cryptococcal infection, endogenous reactivation, host defense, lymphocyte subsets, signaling pathway, sphingosine-1-phosphate
