

特集：母子感染をめぐる諸問題

母乳を介したエイズウイルスの感染伝播

Transmission of HIV-1 via Breast Milk

高橋 秀実

Hidemi TAKAHASHI

日本医科大学微生物学免疫学教室

Department of Microbiology and Immunology, Nippon Medical School

キーワード：HIV-1, 初乳 (colostrum), 母乳マクロファージ (BrMMΦ : breast milk macrophage), 樹状細胞 (DC), DC-SIGN, 感染伝播

はじめに

最近の報告によれば、アフリカなどにおけるエイズ感染爆発の主体は母児感染に起因するものであり、その30-50%は母乳を介したものであることが判明してきた¹⁾。こうした母児感染を防ぐため、抗エイズウイルス薬として *nevirapine* の単独療法が提唱されてきたが²⁾、母体及び新生児における *nevirapine* 耐性ウイルスの出現率が50%を越える状況となったため³⁾、*nevirapine* に AZT や 3TC を併用する療法が試みられ辛うじて耐性ウイルスの出現が抑えられている⁴⁾。またこうした療法に対する不信感、あるいは胎児への影響を危惧する動きもあり、選択的帝王切開による産道感染の回避を含めエイズウイルス (HIV) の垂直感染が予防可能とはなってきたものの、アフリカなどの HIV 浸淫地域では母児感染の拡大が続いているのが現状である⁵⁾。

残念ながらこうした母乳による母児感染が成立するメカニズムに関しては、果たして母乳中に浮遊する free virus を介して感染が伝播するのか、あるいは HIV 感染細胞を介してウイルスが伝播されるのかなど不明な点も多く、今後の科学的な解明を待たざるを得ない状況にある。我々は HIV 母乳感染が、ことに生直後に分泌される初乳を介しての感染率が高いとの報告⁶⁾に基づき、初乳をターゲットして母乳感染が成立する機序の解明を試みた。この際、一般に HIV は CD4 を発現した細胞表面のケモカインレセプターを侵入門戸として細胞に感染するが、母乳感染の主体がケモカインレセプターの一つである CCR5 を標的門戸としたマクロファージ指向性の R5 タイプウイルスによって惹起されていることを勘案し⁷⁾、R5 型の HIV-1 である NL (AD8) 株⁸⁾ を用い研究を展開した。本特集では、こうした我々の最近の研究に基づき、母乳を介したエイズウ

イルスの感染伝播の実体を考察するとともに、その予防法について考えてみたい。

1. 初乳中に認められる細胞群の特徴

乳汁は出産直後よりおよそ1週間から10日前後に巨り分泌され大量の分泌型 IgA を含有する初乳 (colostrum milk) と、それ以降に大量に分泌されほとんど細胞成分を有しない移行乳とに大別される。実際移行乳内の性状を調べてみると、その中にはほとんど細胞成分が含まれていないことが確認される。

筆者等は、正常分娩後の褥婦からインフォームドコンセントを得た上で初乳を採取し、Ficoll-Hypaque を用いた比重遠心分離法により初乳中の細胞を採取し、その表面マーカーを Flow Cytometry を用いて解析した⁹⁾。ライト・ギムザ染色を用いて、末梢血内の単核球 (PBMo : 矢印) と分離母乳細胞を比較したところ、核の分葉がみられ、細胞質内に lipid particles を多くくわえこんでいる巨大な単球系細胞群が多数観察された (図1)。この単球系細胞群における様々な表面マーカーを末梢血の単核球と flow cytometry を用いて比較検討したところ、マクロファージであることを反映する CD14 ならびに樹状細胞の maturation marker である CD83、そして樹状細胞に特有で HIV-1 捕捉能を持つ DC-SIGN 分子¹⁰⁾ が陽性であった (図2)。我々はこの初乳中に特徴的に観察され、その60%以上を占有する細胞群を母乳マクロファージ (BrMMΦ : breast milk macrophage) と命名した。

次にこの母乳マクロファージの産生するサイトカインを調べたところ、通常末梢血単核球群では認められない樹状細胞への分化に必須な因子である GM-CSF を産生していることが判明した (図3)。そこで母乳中マクロファージを IL-4 単独で培養した結果、単球のマーカーである CD14 分子は消失し、樹状細胞のマーカーである CD1 分子群が陽性となることが観察された (図4)。この際、IL-4 単独添加

著者連絡先：〒113-8602 東京都文京区千駄木1-1-5 日本医科大学微生物免疫学研究室

2007年1月31日受付

により分化した樹状細胞は **allogenic MLR** の増強作用を有していたことから、従来の樹状細胞と同等の **T 細胞** の活性化能を持つことが確認された。以上から、分泌型 **IgA** に富み粘膜免疫を反映すると推測される初乳中に最も多数存在

するマクロファージ群は自ら **GM-CSF** を産生し、**IL-4** の添加のみで樹状細胞に分化する樹状細胞前駆細胞であることが証明された。

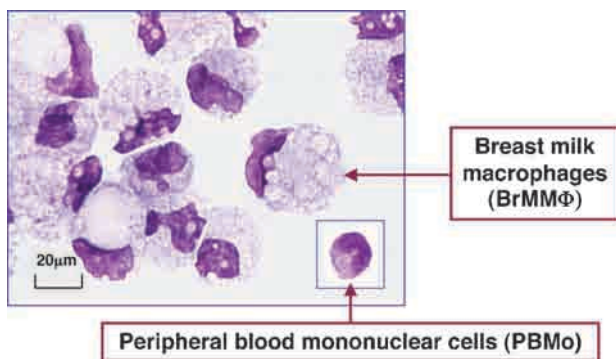


図 1 初乳中に認められる細胞群
(Immunology, 108 : 189-195, 2003 より)

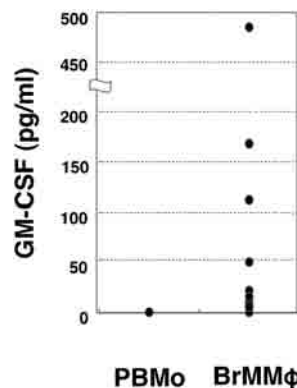


図 3 BrMMΦによる GM-CSF の産生
(Immunology, 108 : 189-195, 2003 より)

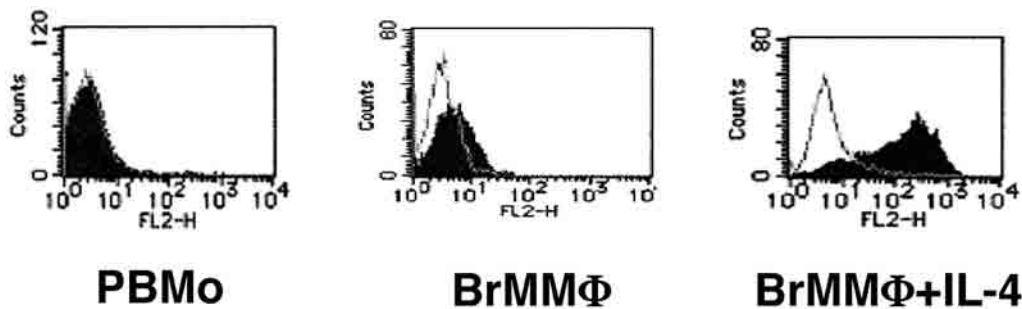


図 2 DC-SIGN 分子の発現状況
(Immunology, 108 : 189-195, 2003 より)

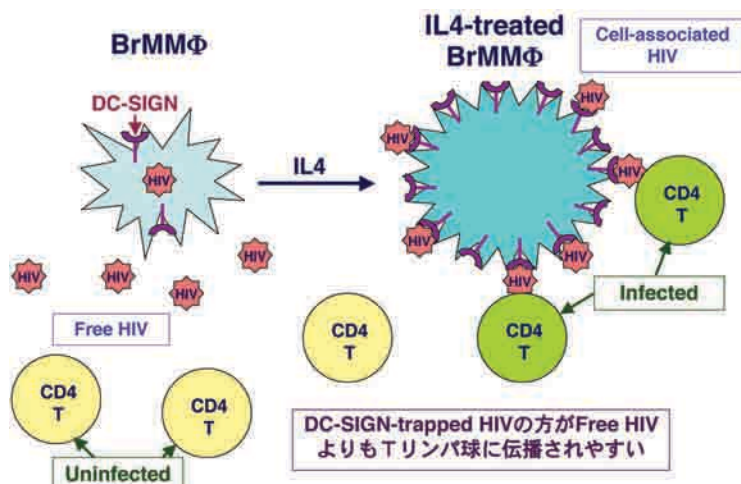


図 9 DC-SIGN を介した母乳 HIV の感染伝播

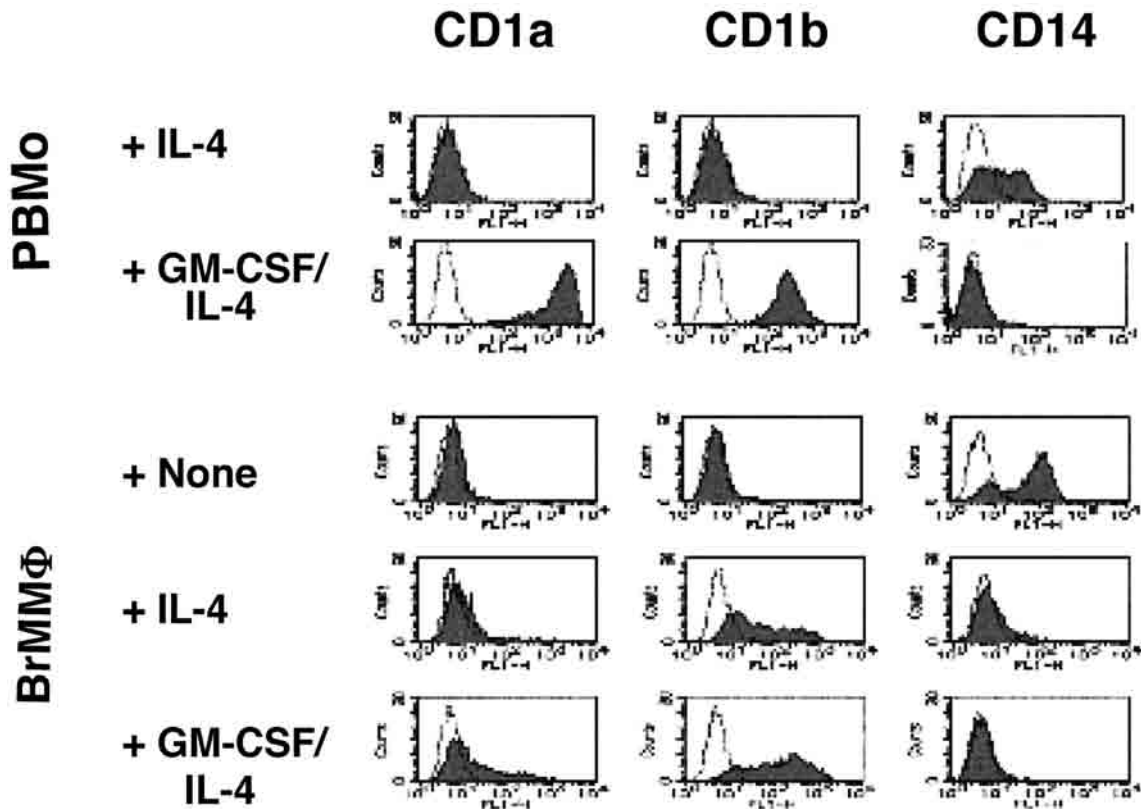


図 4 IL-4 単独添加による BrMMΦ の樹状細胞化 (Immunology, 108 : 189-195, 2003 より)

2. 初乳中細胞群の HIV-1 感受性と感染伝播能

次に初乳中の HIV-1 感受性を有する CD4 陽性細胞群を調べたところ¹¹⁾, 予想に反して T 細胞のマークである CD3 陽性細胞はほとんど検出できず, その大半は CD14 分子陽性のマクロファージ群であった (図 5)。また, この CD4 陽性かつ CD14 陽性の BrMMΦ は, HIV-1 の細胞内侵入に必要なケモカインレセプター CCR5, CXCR4 も発現していた。そこで, マクロファージ群への感染性を有する R5-type の NL (AD8) 株をこれら乳汁より採取した細胞群に感染させ感染伝播力やウイルス複製能力を追跡した。興味深いことに, これら CD4/CD14 陽性マクロファージを IL-4 存在あるいは非存在下で培養し, それらの細胞に HIV-1 ウイルスを感染させたところ, IL-4 刺激した細胞ではウイルスの産生が低下していたものの (図 6A), CD4 とともに CCR5, CXCR4 を発現している MAGIC-5 細胞¹²⁾ への感染伝播力は DC-SIGN が強発現した IL-4 刺激細胞の方がウイルス放出量の多い未刺激群と比較し優位に高いという結果を得た (図 6B)。以上の結果より, DC-SIGN により捕捉されたウイルス粒子の方が, 感染細胞より放出さ

れた Free Virus 粒子よりも遙かに高い感染伝播力を有することが示唆された。そこで, 母乳細胞による MAGIC-5 細胞への HIV-1 感染伝播が, DC-SIGN を介したものであるのか否かを確認するため, 抗 DC-SIGN 抗体による感染阻止実験を施行した。その結果, コントロール抗体群では全く NL (AD8) 株の感染伝播が抑制されなかったものの, 抗 DC-SIGN 抗体の存在下で BrMMΦ にウイルスを感染後 Free Virus を wash out した場合, DC-SIGN を強発現した IL-4 刺激母乳細胞の感染伝播力が著明に抑制されることを観察した (図 7)。このことは, BrMMΦ 上に発現した DC-SIGN を介して捕捉された R5-type の HIV-1 は培養液中に放出された Free Virus よりも強い感染伝播力を保持していることを示している。

3. 母乳を介し経口侵入した HIV-1 に対する胃酸の影響

一般に, サル¹³⁾ およびマウス¹⁴⁾ において様々なルートから投与した SIV などのウイルス群が一様に小腸粘膜に集積したことから, 母乳を介した HIV-1 ウィルスの初感染の場は T リンパ球に富む小腸と推測される。ところが, 母乳

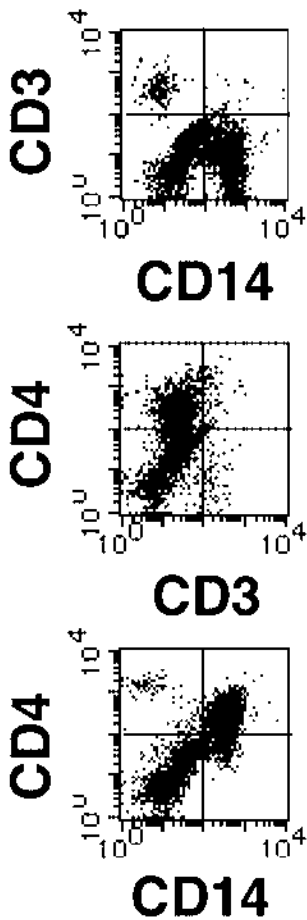


図 5 初乳中の CD4 陽性細胞群
(J Infect Dis, 191 : 174-181, 2005 より)

から放出された HIV-1 が新生児小腸まで運搬されるためには、これら T リンパ球に感染する以前に胃酸に曝されることになる。そこで、胃酸と同等の酸性条件下 (pH 3.0) で HIV-1 に対する感染力を検討したところ、Free のウイルスの場合 1 分間処理ではほぼ完全に感染力を失うが (図 8A)、DC-SIGN を介して捕捉されたと考えられる HIV-1 は 3 分間処理しても依然として 30-40% の感染力が残ることが判明した (図 8B)。これらの実験的な事実は、感染細胞から

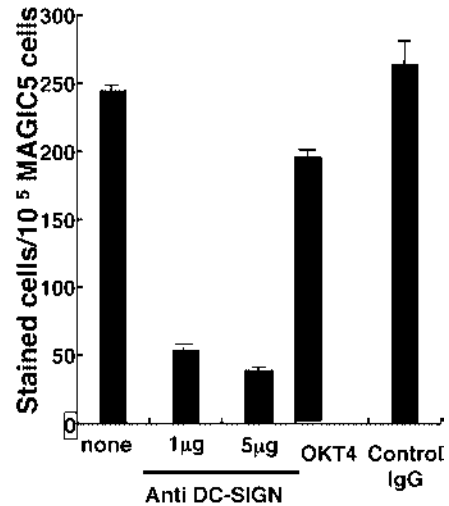


図 7 抗 DC-SIGN 抗体による感染伝播の阻害
(J Infect Dis, 191 : 174-181, 2005 より)

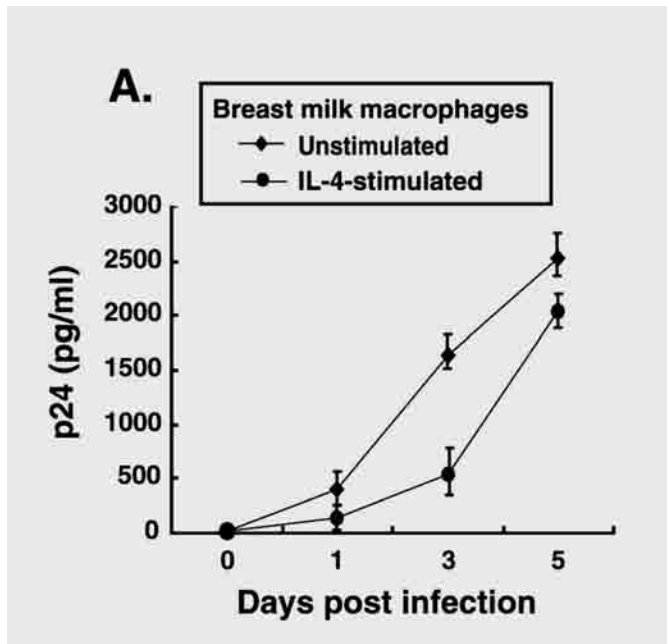
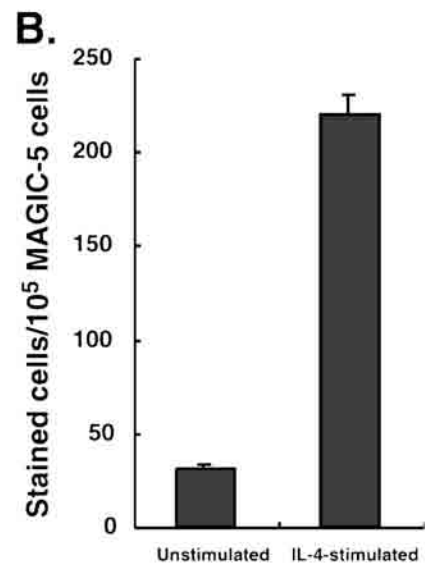


図 6 BRMMΦ の HIV-1 複製力と感染伝播力
(J Infect Dis, 191 : 174-181, 2005 より)



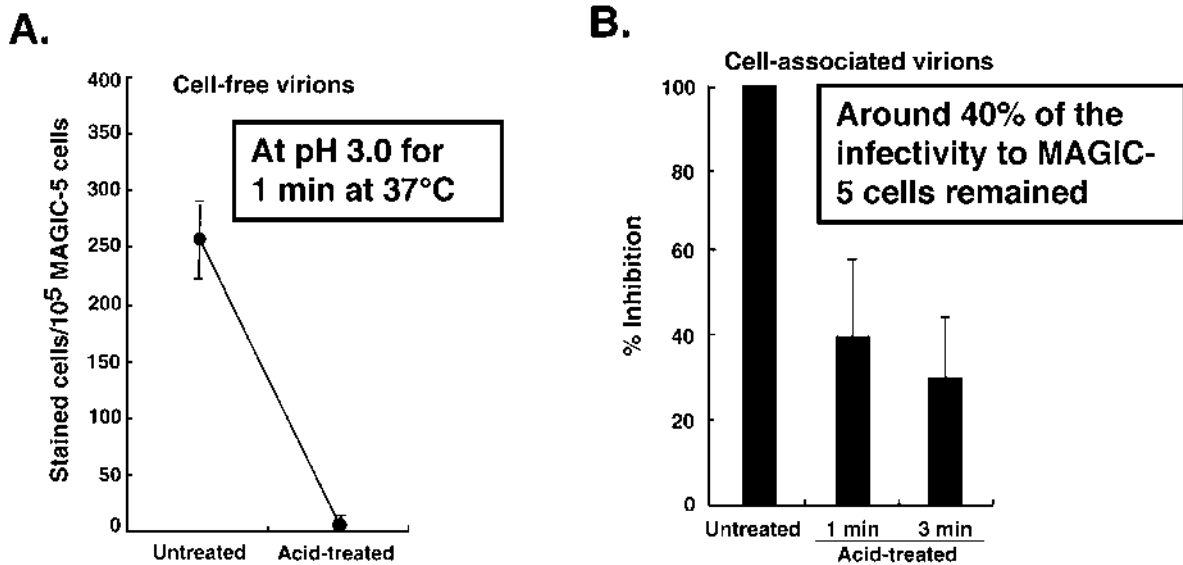


図 8 HIV 感染伝播の酸処理による影響
(J Infect Dis, 191 : 174-181, 2005 より)

放出された Free Virus よりも DC-SIGN を介して捕捉された HIV-1 の方が、小腸の T リンパ球群に対し強い感染性を有することを物語っている。

おわりに

発展途上国における感染爆発の主たる因子と考えられる母児感染、そのおよそ半数が母乳感染である現状において、母乳を介した母児感染を防ぐことは非常に重要な問題である。母乳の飲用をストップさせることが一つの方策ではあるが、発展途上国において母体からの貴重な栄養源であり分泌型 IgA を主体とした免疫源である母乳を与えないことは、さらに多くの新生児の死を誘発する可能性も高い。一方、こうした感染ルートを断ち切る目的で妊婦に対する nevirapine などの抗エイズ薬の使用が提唱されてきたが、高率な耐性ウイルスの出現ならびに妊婦の薬剤に対する不信感に起因する服用低下が、母児感染を防ぐための新たな手だてを切望している³⁾。

図9に示すように、筆者等はこれまでのヒトの母乳、ことに初乳を用いた研究から、母乳を介しての感染の主役が母乳中の Free Virus ではなく、IL-4 の作用により発現が増強した母乳マクロファージ表面に発現増強した DC-SIGN を介して捕捉された HIV-1 粒子であることを見出した。こうした事実は、IL-4 が様々な局所感染症に伴って放出されることから、乳腺炎を含む多様な感染症を制御すること、そして初乳細胞の DC-SIGN の発現を抑制するような方策を開発することで、母乳を介した感染拡大が回避できる可能性を示唆している。

文 献

- 1) Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, Richardson B, Overbaugh J, Mwatha A, Ndinya-Achola J, Bwayo J, Onyango FE, Hughes J, Kreiss J : Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1 : a randomized clinical trial. *Jama* 283 : 1167-1174, 2000.
- 2) Musoke P, Guay LA, Bagenda D, Mirochnick M, Nakabiito C, Fleming T, Elliott T, Horton S, Dransfield K, Pav JW, Murarka A, Allen M, Fowler MG, Mofenson L, Hom D, Mmiro F, Jackson JB : A phase I/II study of the safety and pharmacokinetics of nevirapine in HIV-1-infected pregnant Ugandan women and their neonates (HIVNET 006). *Aids* 13 : 479-486, 1999.
- 3) McIntyre J : Strategies to prevent mother-to-child transmission of HIV. *Curr Opin Infect Dis* 19 : 33-38, 2006.
- 4) Dabis F, Leroy V, Castetbon K, Spira R, Newell ML, Salamon R : Preventing mother-to-child transmission of HIV-1 in Africa in the year 2000. *Aids* 14 : 1017-1026, 2000.
- 5) Shapiro RL, Holland DT, Capparelli E, Lockman S, Thior I, Wester C, Stevens L, Peter T, Essex M, Connor JD, Mirochnick M : Antiretroviral concentrations in breastfeeding infants of women in Botswana receiving antiretroviral treatment. *J Infect Dis* 192 : 720-727, 2005.
- 6) Rousseau CM, Nduati RW, Richardson BA, Steele MS, John-Stewart GC, Mbori-Ngacha DA, Kreiss JK, Over-

- baugh J : Longitudinal analysis of human immunodeficiency virus type 1 RNA in breast milk and of its relationship to infant infection and maternal disease. *J Infect Dis* 187 : 741-747, 2003.
- 7) Becquart P, Chomont N, Roques P, Ayoub A, Kazatchkine MD, Belec L, Hocini H : Compartmentalization of HIV-1 between breast milk and blood of HIV-infected mothers. *Virology* 300 : 109-117, 2002.
- 8) Englund G, Theodore TS, Freed EO, Engleman A, Martin MA : Integration is required for productive infection of monocyte-derived macrophages by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 69 : 3216-3219, 1995.
- 9) Ichikawa M, Sugita M, Takahashi M, Satomi M, Takeshita T, Araki T, Takahashi H : Breast milk macrophages spontaneously produce granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and differentiate into dendritic cells in the presence of exogenous interleukin-4 alone. *Immunology* 108 : 189-195, 2003.
- 10) Geijtenbeek TB, Kwon DS, Torensma R, van Vliet SJ, van Duijnhoven GC, Middel J, Cornelissen IL, Nottet HS, KewalRamani VN, Littman DR, Figdor CG, van Kooyk Y : DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 100 : 587-597, 2000.
- 11) Satomi M, Shimizu M, Shinya E, Watari E, Owaki A, Hidaka C, Ichikawa M, Takeshita T, Takahashi H : Transmission of macrophage-tropic HIV-1 by breast-milk macrophages via DC-SIGN. *J Infect Dis* 191 : 174-181, 2005.
- 12) Hachiya A, Aizawa-Matsuoka S, Tanaka M, Takahashi Y, Ida S, Gatanaga H, Hirabayashi Y, Kojima A, Tatsumi M, Oka S : Rapid and simple phenotypic assay for drug susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 using CCR5-expressing HeLa/CD4 (+) cell clone 1-10 (MAGIC-5). *Antimicrob Agents Chemother* 45 : 495-501, 2001.
- 13) Veazey RS, DeMaria M, Chalifoux LV, Shvetz DE, Pauley DR, Knight HL, Rosenzweig M, Johnson RP, Desrosiers RC, Lackner AA : Gastrointestinal tract as a major site of CD4+ T cell depletion and viral replication in SIV infection. *Science* 280 : 427-431, 1998.
- 14) Kuribayashi H, Wakabayashi A, Shimizu M, Kaneko H, Norose Y, Nakagawa Y, Wang J, Kumagai Y, Margulies DH, Takahashi H : Resistance to viral infection by intraepithelial lymphocytes in HIV-1 P18-I10-specific T-cell receptor transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 316 : 356-363, 2004.