

総説

HAART 治療中の粘膜組織に潜伏する HIV とその制御

Control of Persistently Infected HIV-1 in the Mucosal
Compartment of HAART-Treated Patients

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

はじめに

1995年に従来の逆転写酵素阻害剤とプロテアーゼ阻害剤との併用による強力な抗エイズ治療（Highly Active Anti-Retroviral Therapy: HAART）¹⁾の有用性が示されて以来、HIV感染の人為的制御が可能となり、エイズによる死者は激減し現在の状況に至っている。このHAART治療の結果、一般的にHIV感染者では末梢血中のウイルス量が検出感度以下となりウイルスは体内から消失した状態になると考えられるが、治療を中断することによって、残念ながら数カ月以内に再び血液中にHIV粒子が出現することが知られている²⁾。このことは、現在のHAART療法では、完全にHIV粒子を体内から排除することは不可能であることを物語っている。またHAARTに用いる薬剤は、その開発に膨大な費用がかかっているため非常に高価であり、経済的に裕福な国家でなければ治療そのものを継続することは困難である。それゆえさまざまな抗エイズ薬が開発され使用可能な状況となっている現代においても、HIVを完全に駆逐することは不可能と考えられる。

HAART治療により末梢血のウイルスが消失した患者において、どこかにHIVが潜伏している可能性を追跡した論文は散見されるものの³⁾、治療中の患者の潜伏部位を同定した論文は調べた限りでは認められない。こうしたなか筆者等は、国立国際医療研究センター岡センター長の協力のもと、HAART治療中患者の末梢血および大腸ファイバースコープによる生検組織のサンプルを入手し、本学エイズ外来での患者サンプルを含め解析する機会を得た。その結果図1に示したように、治療中患者の末梢血中にはまったくHIV粒子が認められなかったにもかかわらず、大腸ファイバーで採取した回盲部をこえた小腸の生検組織

中にp24抗原陽性のHIV感染細胞が散見され、その多くがVα24陽性のT細胞レセプターを発現したCD4陽性ナチュラルキラーT（NKT）細胞であることを見出した⁴⁾。この結果は、サルモデルにSIVを注入しウイルスの分布部位を調べた結果、消化管、特に小腸にウイルス粒子が散見されたとする文献⁵⁾、あるいはインフルエンザのHA抗原遺伝子を導入し抗HA抗体で追跡可能なワクチニアウイルスをマウスに接種した場合、ウイルスが小腸粘膜細胞に集積することを確認できたとする筆者等の報告⁶⁾に一致するものであった。今回の報告も含め、さまざまなウイルスの潜伏部位もまた小腸であることが今後明らかとなってくる可能性もある。

粘膜組織中に散見されたT細胞レセプターVα24陽性のCD4陽性NKT細胞は、脂質抗原提示分子であるCD1d分子によって提示されたα-galactosyl ceramide（α-GalCer）などの糖脂質抗原に応答することが判明している自然免疫を担う細胞⁷⁾だが、このNKT細胞の真の役割はいまだ不明な点が多い。最近では、このNKT細胞が抗腫瘍免疫の一翼を担う細胞として注目を集めている⁸⁾。HIV感染個体において、HAARTを行っているにもかかわらず、小腸粘膜に棲息するNKT細胞へのHIV感染が阻止できず持続感染状態が継続された結果、NKTの機能が障害されることと、HAART治療中の患者において難治性の発癌が誘発されることとの間に、関連性があるとしたならば、HIVに感染したNKT細胞を救済する手法の開発は、悪性腫瘍に見舞われたHIV感染者を救うためにも非常に重要である。

本稿では、CD4陽性NKT細胞内に潜伏したHIVの制御法の開発に向けた筆者等の最新の知見を紹介し、読者諸氏とともに現在のHAART療法と組み合わせることが可能な治療手段を考えてみたい。

著者連絡先：高橋秀実（〒113-8602 東京都文京区千駄木1-1-5 日本医科大学微生物学免疫学教室）

2015年1月6日受付

1. 免疫システムの概要とHIV感染

われわれの体内に構築された免疫システムは、あらかじ

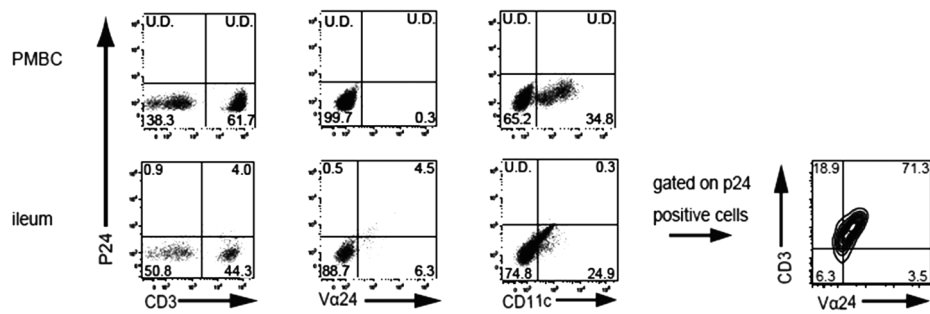


図 1 HAART 治療中患者における末梢血単核球 (PBMC) および回腸中 (ileum) の P24 抗原陽性 HIV 感染細胞の存在と、その表面マーカーの特性
PBMC 中に HIV 感染細胞はまったく同定できなかったが、同患者の回腸内の Va24 陽性 CD3 陽性 NKT 細胞において HIV が感染・複製していた。
Matsumura *et al* : Biomedical Res 35 : 1-8, 2014 より転載。

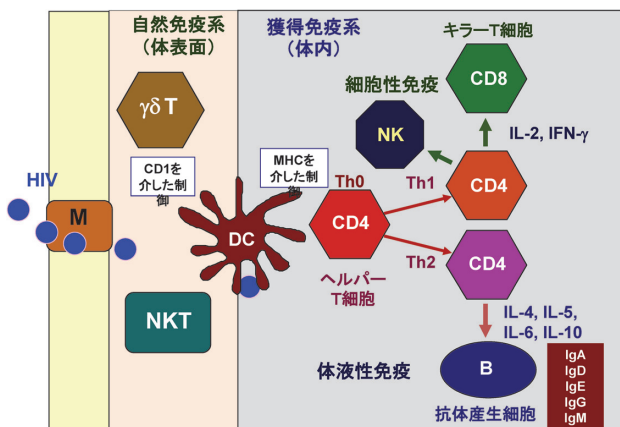


図 2 体表面に配置された自然免疫と体内に配置された獲得免疫

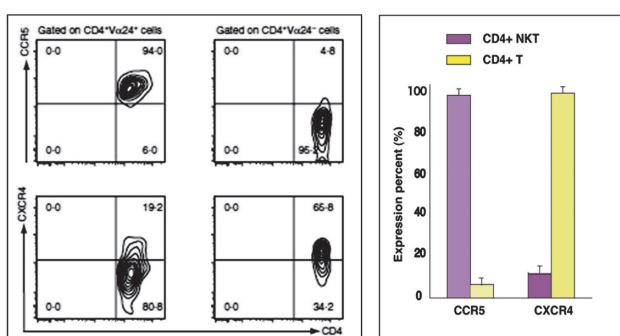


図 3 CD4 陽性ヘルパー T 細胞と CD4 陽性 NKT 細胞に発現しているケモカインレセプター
Omi *et al* : Immunology 141 : 596-608, 2014 より改変。

め体内に構築され、記憶や特異性をもたないものの、侵入異物を速やかに認識・排除するための機能を備えた「自然免疫システム」と、侵入異物の構造をチェックした後に誘

導される、その構造に対する記憶と特異性を備えた「獲得免疫システム」とに大別される。図 2 に示すように、免疫システムは全体として樹状細胞群によって統御されている。前者「自然免疫システム」には、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞や NKT 細胞といった異物を認識する固定型レセプターが異物の侵入以前に発現しているのに対し、後者「獲得免疫システム」には、侵入異物の情報を記憶し、その再度の侵入に対し抗原特異的に応答するヘルパー T 細胞やキラー T 細胞ならびに B 細胞が含まれる。そして前者「自然免疫システム」は樹状細胞に発現した脂質情報を提示する CD1 分子群によって制御されているのに対し、後者「獲得免疫システム」は蛋白質ペプチド情報を提示する MHC 分子群によって制御されていることが明らかとなってきた⁹⁾。

HIV は免疫システムを統括する樹状細胞にも感染し、ウイルスが保有する免疫抑制因子である Nef 蛋白/Nef 遺伝子を介して CD1 分子や MHC 分子の発現を抑制し¹⁰⁾、「自然免疫」および「獲得免疫」双方の機能を低下させ、免疫システムから逃避する機能を有している。それとともに、それぞれの実行制御部隊ともいえるべき、CD4 分子を発現した NKT 細胞やヘルパー T 細胞の中に侵入し、そこで複製するとともにそれらの機能を廃絶に導く。これまで数多くの研究者が、CD8 陽性 T 細胞を除去することによって、感染細胞からのウイルス粒子の放出が促進されることを報告してきたが、その主体は「獲得免疫」に属する CD8 分子を有したキラー T 細胞であると考え、その賦活による感染細胞の制御のみに着目してきた。

われわれは HIV の感染標的であるとともに増殖の場である CD4 陽性 T 細胞を詳細に検討したところ、図 3 に示したように NKT 細胞とヘルパー T 細胞におけるケモカインレセプターの発現に大きな差があることを見出した¹¹⁾。すなわち、NKT 細胞の表面には CCR5 が、ヘルパー T 細胞

胞（特に末梢血中）の表面には CXCR4 が優位に発現していることを見出した。このことは、血友病患者や麻薬常習者などで多数認められた X4-type の HIV は末梢血の CD4 陽性ヘルパー T 細胞に優位に感染し、現在粘膜感染を介

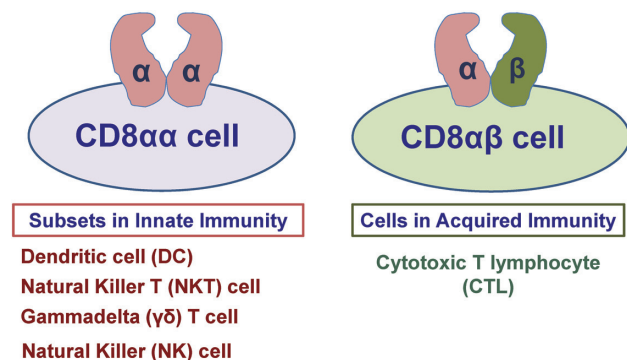


図 4 CD8 $\alpha\alpha$ 陽性細胞群と CD8 $\alpha\beta$ 陽性細胞群

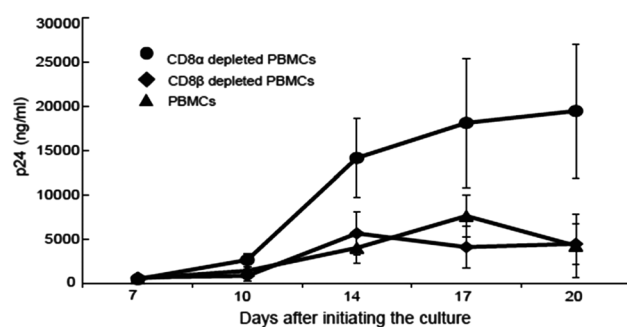


図 5 PBMC よりあらかじめ CD8 α 陽性細胞あるいは CD8 β 陽性細胞を除いた場合の影響

Omi *et al* : Immunology 141 : 596-608, 2014 より転載。

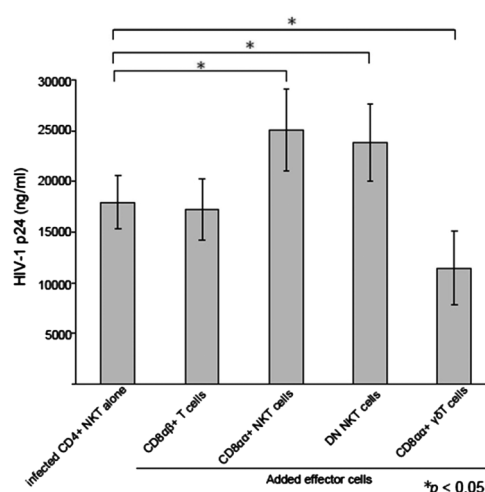


図 6 HIV 感染 NKT 細胞に各種 T 細胞を加え培養した場合の影響

Omi *et al* : Immunology 141 : 596-608, 2014 より転載。

して感染拡大している R5-type の HIV は CD4 陽性の NKT 細胞に高い感染性を有していることを物語っている。

X4-type の HIV は主として T 細胞指向性であり病状が進行した状態の血液中に認められる。これに対し、R5-type の HIV は主として感染初期の粘膜組織に認められる。HAART 療法が開発された初期の標的が X4-type であったためであろうか、致死性は低いものの粘膜感染型の R5-type ウイルスが現在蔓延している主たるウイルスとなっている。以下に、この R5-type 型 HIV の粘膜組織における標的とも考えられる CD4 陽性 NKT 細胞における感染制御への関与が示唆される別のタイプ CD8 陽性 T 細胞について、われわれの最新の知見をもとに考えてみたい。

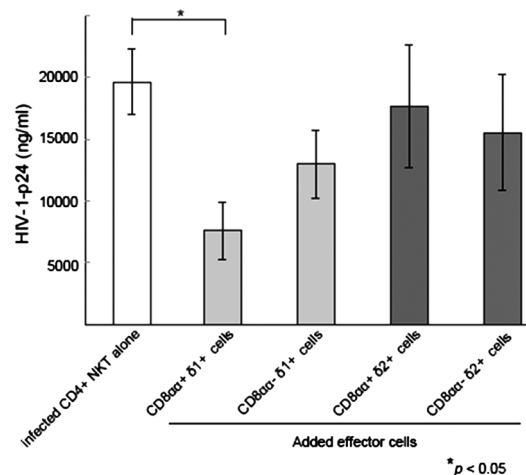


図 7 HIV 感染 NKT 細胞に各種 $\gamma\delta$ 型 T 細胞を加え培養した場合の影響

Omi *et al* : Immunology 141 : 596-608, 2014 より転載。

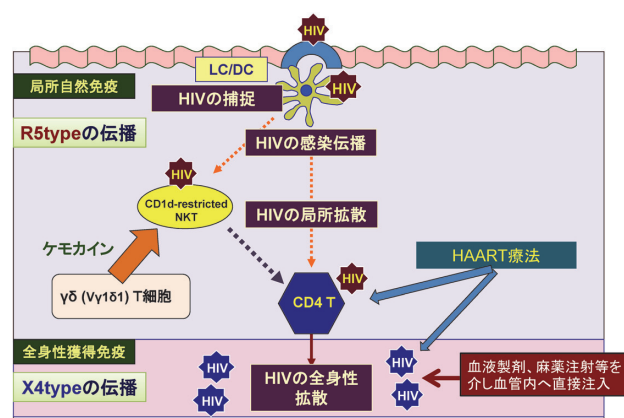


図 8 HAART 療法と $\gamma\delta$ T 細胞活性化療法を組み合わせた新たな HIV 制御法の有用性（仮説）

2. CD4 陽性 NKT 細胞に感染した R5-type HIV の制御

先に述べたように、CD8 陽性 T 細胞を HIV 感染細胞から除くとウイルスの増殖性が増すことが知られている¹²⁾。CD8 分子には CD8 $\alpha\alpha$ 型のものと CD8 $\alpha\beta$ 型のものが存在する。前者 CD8 $\alpha\alpha$ 分子を発現した細胞は「自然免疫」を担うのに対し、後者 CD8 $\alpha\beta$ 分子を発現した細胞群は胸腺で教育を受けた「獲得免疫」を担う。図 4 にまとめたように、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性細胞には樹状細胞、NK 細胞、NKT 細胞、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞が含まれるのに対し、CD8 $\alpha\beta$ 陽性細胞の主体は細胞傷害性 T 細胞 (CTL) である。

われわれは、CD8 α 特異的抗体あるいは CD8 β 特異的抗体を用い、あらかじめ末梢血単核球 (PBMC) より CD8 α 陽性細胞あるいは CD8 β 陽性細胞を除き、その群団を α -GalCer で 6 日間刺激培養した後、R5-type の HIV を感染させた NKT 細胞の培養系のウイルス量を P24 抗原量として追跡したところ、図 5 に示すように CD8 α 陽性細胞を除いた場合のみ P24 抗原量の増加を認めた。この結果は、R5-type HIV に感受性のある CD4 陽性 NKT 細胞でのウイルス増殖は、従来想定されてきた CD8 $\alpha\beta$ 陽性 CTL ではなく、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性樹状細胞、NK 細胞、NKT 細胞、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞によって抑制されることを示している。さらにこの培養系には CD8 $\alpha\alpha$ 陽性樹状細胞ならびに CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 NK 細胞は含まれていなかったことから、ウイルス増殖制御に関わる細胞は、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 NKT 細胞か CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 $\gamma\delta$ 型 T 細胞と考え、R5-type HIV を感染させた CD4 陽性 NKT 細胞に CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 NKT 細胞、あるいは CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 $\gamma\delta$ 型 T 細胞を添加培養し、CD8 $\alpha\beta$ 陽性 T 細胞あるいは CD4⁺/CD8⁻ NKT 細胞をコントロール群として比較検討した。その結果、図 6 に示すように、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 $\gamma\delta$ 型 T 細胞を添加培養したときのみ P24 抗原の産生が抑制された。

一般に CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は、その T 細胞レセプター可変部領域 (V region) の種類から V γ 1V δ 1 型と V γ 2V δ 2 型の 2 種に大別される。そこで、われわれはどちらのタイプの CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 $\gamma\delta$ 型 T 細胞が NKT 細胞内でのウイルス複製を制御するのかを検討するため、あらかじめ PBMC より CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 V δ 1 陽性細胞と CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 V δ 2 陽性細胞を集積し、それぞれを R5-type HIV を感染させた CD4 陽性 NKT 細胞に添加することによって HIV 増殖抑制能を追跡した。その結果、図 7 に示すように、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 V γ 1V δ 1T 細胞を添加培養したときのみ P24 抗原の産生が抑制された。また、この抑制には、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 V γ 1V δ 1T 細胞から放出された MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES などのケモカインが関与することを見出した。以上より、CD4 陽性 NKT 細胞に感染した R5-type HIV の制御に関わる主たる細胞群は、

CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 V γ 1V δ 1T 細胞であることが明らかとなった。

おわりに

HAART 治療は HIV 制圧の鍵を握る治療法であり、事実多くの感染者/患者に多大な福音をもたらしたが、HAART 治療の中断によって再び HIV の増殖が惹起されることもまた事実である。その理由として、粘膜、ことに小腸粘膜内における R5-type HIV の制御が、現在の HAART 療法では不十分であるものと考えられる。そして、こうした粘膜組織内の NKT 細胞を主体とした自然免疫系の持続的なダメージが、HAART 長期治療時の発癌に関与する可能性も推測される¹³⁾。

こうしたなか、筆者等は R5-type HIV が感染した CD4 陽性 NKT 細胞におけるウイルス増殖制御の鍵を握る細胞が、CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 V γ 1V δ 1T 細胞であることを突き止めた。以上のことは、図 8 にまとめたように、獲得免疫システムにおける CD4 陽性ヘルパー T 細胞に感染した HIV (X4-type) は同じ獲得免疫に属する CD8 陽性の CTL によって感染細胞そのものが傷害・制御されるが、自然免疫システムにおける CD4 陽性 NKT 細胞に感染した R5-type HIV は CD8 陽性 V γ 1V δ 1T 細胞の放出する液性因子 (cell anti-viral factor : CAF)¹⁴⁾ によって制御されることを物語っている。すなわち、従来から指摘されてきた CD8 陽性 T 細胞による HIV 感染制御には、CTL による感染細胞の直接的な制御と $\gamma\delta$ 型 T 細胞、特に V γ 1V δ 1T 細胞による間接的な制御とが複合的に作用していた結果を示したものと推測される。

これまで V γ 2V δ 2 型の $\gamma\delta$ 型 T 細胞を活性化する物質に関しては、コレステロールの前駆物質である Isopentenyl pyrophosphate (IPP)¹⁵⁾、アルキルアミン群¹⁶⁾やお茶由来のテアニン¹⁷⁾、骨粗鬆に用いるアミノビスフォスフォネート製剤¹⁸⁾のようにいくつか報告があるが、V γ 1V δ 1 型 $\gamma\delta$ 型 T 細胞を活性化する正確な物質についての報告はない。今後は、この V γ 1V δ 1 型 $\gamma\delta$ 型 T 細胞の活性化剤を見出すとともに、この薬剤と従来の HAART 療法に用いられた薬剤とを組み合わせることによって、本質的な HIV 感染の治療法が見出されることを期待したい。

文 献

- 1) Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R, Katlama C, Debre P, Leibowitch J : Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4⁺ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 277 : 112–116, 1997.
- 2) Chun TW, Davey RT, Jr., Ostrowski M, Shawn Justement J, Engel D, Mullins JI, Fauci AS : Relationship between pre-existing viral reservoirs and the re-emergence of plasma

- viremia after discontinuation of highly active anti-retroviral therapy. *Nat Med* 6 : 757–761, 2000.
- 3) Finzi D, Hermankova M, Pierson T, Carruth LM, Buck C, Chaisson RE, Quinn TC, Chadwick K, Margolic J, Brookmeyer R, Gallant J, Markowitz M, Ho DD, Richman DD, Scliciano RF : Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science* 278 : 1295–1300, 1997.
 - 4) Matsumura J, Shimizu M, Omi K, Nagata N, Shinya E, Oka S, Takahashi H : A possible origin of emerged HIV-1 after interrupting anti-retroviral therapy. *Biomed Res* 35 : 1–8, 2014.
 - 5) Veazey RS, DeMaria M, Chalifoux LV, Shvetz DE, Pauley DR, Knight HL, Rosen Zweig 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.
 - 6) 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.
 - 7) Moutsinger A, Haas DW, Stanic AK, Van Kaer L, Joyce S, Unutmaz D : CD1d-restricted human natural killer T cells are highly susceptible to human immunodeficiency virus 1 infection. *J Exp Med* 195 : 869–879, 2002.
 - 8) Cui J, Shin T, Kawano T, Sato H, Kondo E, Toura I, Kaneko Y, Koseki H, Kanno M, Taniguchi M : Requirement for V α 14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors. *Science* 278 : 1623–1626, 1997.
 - 9) Takahashi H : Species-specific CD1-restricted innate immunity for the development of HIV vaccine. *Vaccine* 28 (Suppl 2) : B3–B7, 2010.
 - 10) Shinya E, Owaki A, Shimizu M, Takeuchi J, Kawashima T, Hidaka C, Satomi M, Watari E, Sugita M, Takahashi H : Endogenously expressed HIV-1 nef down-regulates antigen-presenting molecules, not only class I MHC but also CD1a, in immature dendritic cells. *Virology* 326 : 79–89, 2004.
 - 11) Omi K, Shimizu M, Watanabe E, Matsumura J, Takaku C, Shinya E, Takahashi H : Inhibition of R5-tropic HIV type-1 replication in CD4(+) natural killer T cells by $\gamma\delta$ T lymphocytes. *Immunology* 141 : 596–608, 2014.
 - 12) Walker CM, Moody DJ, Stites DP, Levy JA : CD8⁺ lymphocytes can control HIV infection in vitro by suppressing virus replication. *Science* 234 : 1563–1566, 1986.
 - 13) Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM : Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients : a meta-analysis. *Lancet* 370 : 59–67, 2007.
 - 14) Levy JA, Mackewicz CE, Barker E : Controlling HIV pathogenesis : the role of the noncytotoxic anti-HIV response of CD8⁺ T cells. *Immunol Today* 17 : 217–224, 1996.
 - 15) Tanaka Y, Morita CT, Nieves E, Brenner MB, Bloom BR : Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human $\gamma\delta$ T cells. *Nature* 375 : 155–158, 1995.
 - 16) Bukowski JF, Morita CT, Brenner MB : Human $\gamma\delta$ T cells recognize alkylamines derived from microbes, edible plants, and tea : implications for innate immunity. *Immunity* 11 : 57–65, 1999.
 - 17) Kamath AB, Wang L, Das H, Li L, Reinhold VN, Bukowski JF : Antigens in tea-beverage prime human V γ 2V δ 2 T cells in vitro and in vivo for memory and nonmemory antibacterial cytokine responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 6009–6014, 2003.
 - 18) Das H, Wang L, Kamath A, Bukowski JF : V γ 2V δ 2 T-cell receptor-mediated recognition of aminobisphosphonates. *Blood* 98 : 1616–1618, 2001.