

## 総説

漢方薬により活性化された 1 型  $\gamma\delta$  T 細胞による HIV 増殖抑制：  
新たな HIV 制御への道Suppression of R5-Type of HIV-1 by  $V\delta 1^+$  T Cells Activated by  
Flavonoid Glycosides, Identified from Chinese  
Herbal Medicine, Hesperidin and Linarin

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

日本エイズ学会誌 21: 127-131, 2019

## はじめに

逆転写酵素阻害剤の出現、そしてタンパク分解酵素の併用による HAART 治療、さらにはインテグラーゼ阻害剤の登場によって、エイズウイルス (HIV-1) は長期間にわたり制御され、これらの薬剤の併用によって感染者の末梢血液中から消失する時代を迎えた<sup>1)</sup>。そして、薬剤の併用によりウイルスは制御可能であり、病状の進行もストップされ、薬剤の副作用もあまり懸念されることのない現在の状況は、HIV 感染症が curable な疾病と考えられるようになってきたことを強く示唆している。

しかしながら、こうした薬剤の中断に伴い速やかに再度ウイルス粒子の出現が認められる事実は、これらの薬剤の使用によって体内に潜入し HIV-1 が完全には制御できないことを物語っている。

こうしたなか筆者らは、HAART 治療を受け末梢血中には HIV 粒子がまったく認められない状態の患者の回盲部の組織を、許諾を得た上で大腸ファイバースコープを用いて採取し、その採取組織を詳細に検討した。その結果、図 1 に示すように小腸粘膜組織内に明らかな HIV-1 感染細胞群を同定することができた。この事実は、現在の HAART 治療が奏功し、ウイルス粒子が末梢血中にまったく認められなくなった状態の患者においても、小腸等の粘膜組織において、HIV-1 感染は完全には制御されていないことを物語っている。

詳細な検討の結果、小腸内のウイルス感染細胞は、CD4 分子を有した  $V\alpha 24$  陽性 T 細胞レセプター (TCR) 発現し

た、自然免疫を担当する NKT (ナチュラルキラー T) 細胞の一群であることが判明した<sup>2)</sup>。そして、この CD4 陽性 NKT 細胞は、HIV-1、特にマクロファージ指向性のある R5 型 HIV-1 に感受性があり、感染に伴い細胞性免疫の障害を誘発する。このことは、長い間の謎であった事象、すなわち HIV-1 感染が成立した個体では、患者さんの B リンパ球による抗体産生システムはあまり障害されないものの、T 細胞による細胞性免疫システムが優位に障害されるといふ、臨床的な事実に合致することを強く示唆している。

こうした事実をもとに、われわれは R5 タイプの HIV-1 に感染した CD4 陽性 NKT 細胞内のウイルス粒子が制御される可能性を検討した。その結果、 $\gamma\delta$  型 T 細胞、特にその実体があまり良く解明されていない、 $V\gamma 1V\delta 1$  型の TCR を有した  $\gamma\delta$  細胞群が、NKT 細胞内の R5 タイプの HIV-1 の増殖を抑制することを見出した<sup>3)</sup>。

1.  $V\gamma 2V\delta 2$  型の TCR を有した  $\gamma\delta$  細胞群を活性化  
する抗原分子の解析

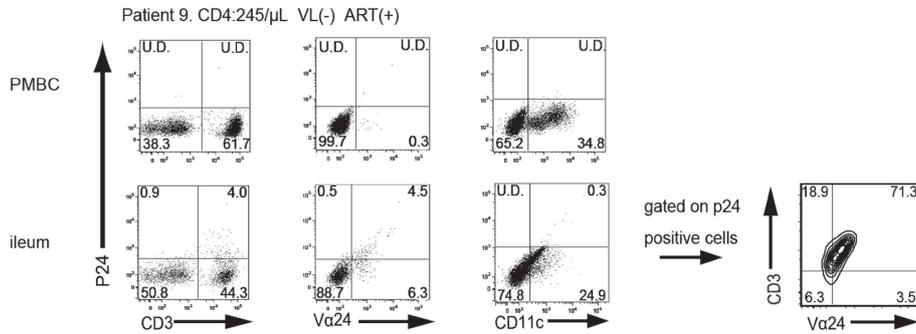
$\gamma\delta$  細胞群は、図 2 に示したように、組織の修復・再生、あるいはウイルス粒子の細胞内での増殖を制御する自然免疫を担当する細胞群であり、主として I 型と II 型に大別される。これまでの研究では、II 型  $\gamma\delta$  細胞群の認識抗原が初めて発見されたのが 1995 年であり<sup>4)</sup>、筆者の知る限り I 型  $\gamma\delta$  細胞群の具体的な抗原構造に関する報告は、今回の筆者らの報告が初めてである<sup>5)</sup>。

したがって、今日に到るまで  $\gamma\delta$  細胞群の認識抗原分子の作用機序に関しては、II 型  $\gamma\delta$  細胞群に関するもののみが検討され報告されてきたのが実情である。驚くべきことに II 型  $\gamma\delta$  T 細胞群が、その表面に発現した TCR を介して

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)

2019 年 6 月 18 日受付

HAART治療により末梢血中のウイルス量 (P24) は検出感度以下となった症例において、同一患者の回腸末端部の生検組織中に、多数のR5type-HIV感染細胞が見つかり、その主体はVa24陽性CD3陽性のNKT細胞であった。



HIV感染NKT細胞を制御する手法を現在のHAART療法に加えることによって、より確実なHIV制御が可能となるのでは？

図 1 HAART 治療中の患者において見出された小腸粘膜における HIV-1 感染細胞群 (文献 2 改変)

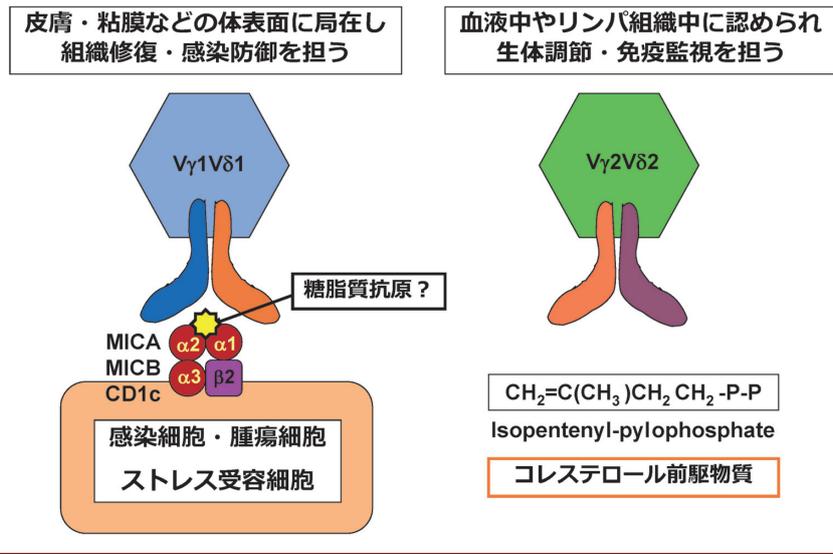


図 2  $\gamma\delta$  型 T 細胞の存在部位・役割と認識抗原

認識する抗原は、従来の T 細胞とは異なり、アルキルピロリン酸という脂質抗原であった。同様に、I 型  $\gamma\delta$  T 細胞群がその表面に発現した TCR を介して認識する抗原もまたフラボノイドグリコシドという 2 糖類が結合した脂質抗原であった。

1995 年に発見されたアルキルピロリン酸の本体は、コレステロールの原材料でもある *iso*-pentenyl-pyrophosphate (IPP) であったが、それと類似構造を有し分子量が同じ dimethylaryll-pyrophosphate (DMAPP) もまた II 型  $\gamma\delta$  細胞群を活性化した。さらに図 3 に示したように、IPP あるいは

DMAPP から派生した geranyl-pyrophosphate (GPP) をもとに構築される farnesyl-pyrophosphate (FPP) の合成を阻害する分子群である、アルキルアミン<sup>6)</sup> やリセドロンネートのような骨粗鬆症の治療に用いられるアミノビスフォネート製剤<sup>7)</sup> などの FPP 合成酵素阻害剤もまた、IPP および DMAPP を増加させる結果、II 型  $\gamma\delta$  細胞群を活性化させることが判明している<sup>8)</sup>。

今回筆者らは、V $\gamma$ 2V $\delta$ 2 型 TCR を発現した  $\gamma\delta$  細胞を筆者末梢血単核球より誘導し、V $\gamma$ 2V $\delta$ 2 型 TCR の遺伝子構造を明らかにするとともに、それらの遺伝子を JRT3-T3.5 と

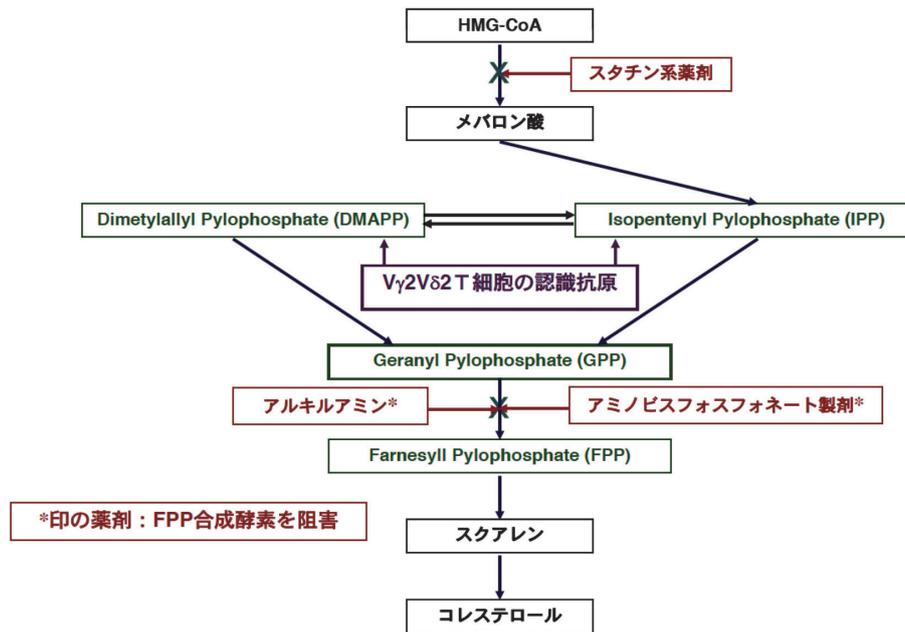


図 3 コレステロール産生系と II 型  $\gamma\delta$  細胞

**TCR-deficient Jurkat T cell line J.RT3-T3.5 に TCR 遺伝子を導入**

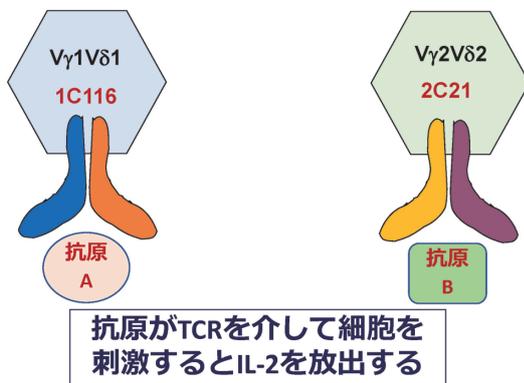


図 4 実験に用いた TCR 遺伝子発現細胞群

この TCR 遺伝子欠損株に発現させた細胞株 (2C21) を独自に作製することに成功した (図 4)。この 2C21 株は、その表面に発現させた TCR に特異的な抗原分子が結合すると、IL-2 を放出する。この細胞株 (2C21) に、IPP、アルキルアミン、リセドロネートを添加培養し、IL-2 を特異的に放出するか否かを詳細に検討した。

その結果、図 5 に示したように、II 型  $\gamma\delta$  細胞群の機能を反映する 2C21 株は、IPP、アルキルアミン、リセドロネートすべてのコレステロール関連物質群を特異的に認識応答し、IL-2 を放出することを確認した。すなわち 2C21 株は、その  $V\gamma 2V\delta 2$  型 TCR を介して特異的にコレステロール関

連物質群を認識することが判明した。

**2.  $V\gamma 1V\delta 1$  型の TCR を有した  $\gamma\delta$  細胞株の樹立とその細胞株を活性化する抗原分子の同定**

同様に、 $V\gamma 1V\delta 1$  型 TCR を発現した  $\gamma\delta$  細胞を筆者末梢血単核球より誘導し、 $V\gamma 1V\delta 1$  型 TCR の遺伝子構造を明らかにするとともに、それらの遺伝子を JRT3-T3.5 という TCR 遺伝子欠損株に発現させた細胞株 (1C116) を作製することに成功した。この細胞株をさまざまな脂質群で刺激したところ、生薬成分“陳皮”に含有されるフラボノイドグリコシドである Hesperidin あるいは“枸杞子”や“菊花”に含まれる Linarin という 2 糖類が結合したフラボノイドで刺激したところ、図 6 に示したように IL-2 の著明な産生放出が認められた。

この際、糖質を欠損したフラボノイドである Hesperetin, Acacetin, あるいは Acetyl 基を持たない Isorhoifolin ではほとんど刺激が入らなかったことから、 $V\gamma 1V\delta 1$  型 TCR はかなり特異的にこうした糖脂質群を認識していることが判明した。また、このような結果から、I 型  $\gamma\delta$ T 細胞もまた、脂質抗原を認識・応答する T 細胞群であることが明らかとなった。

**3.  $V\gamma 1V\delta 1$  型の  $\gamma\delta$  細胞株による HIV-1**

そこで図 7 に示したように、筆者末梢血単核球より誘導した  $V\gamma 1V\delta 1$  型  $\gamma\delta$  細胞 ( $V\delta 1 (+)$  細胞) を、R5-type-HIV-1 が感染した CD4 陽性の NKT 細胞と共培養した場合、

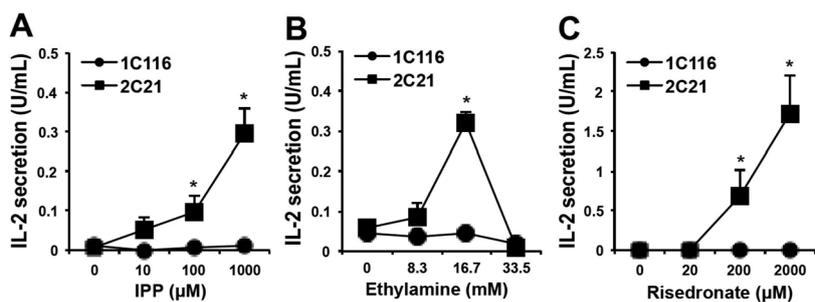


図 5 各種刺激因子による II 型  $\gamma\delta$  細胞 (2C21 細胞株) からの IL-2 放出量の変化 (文献 5 改変)

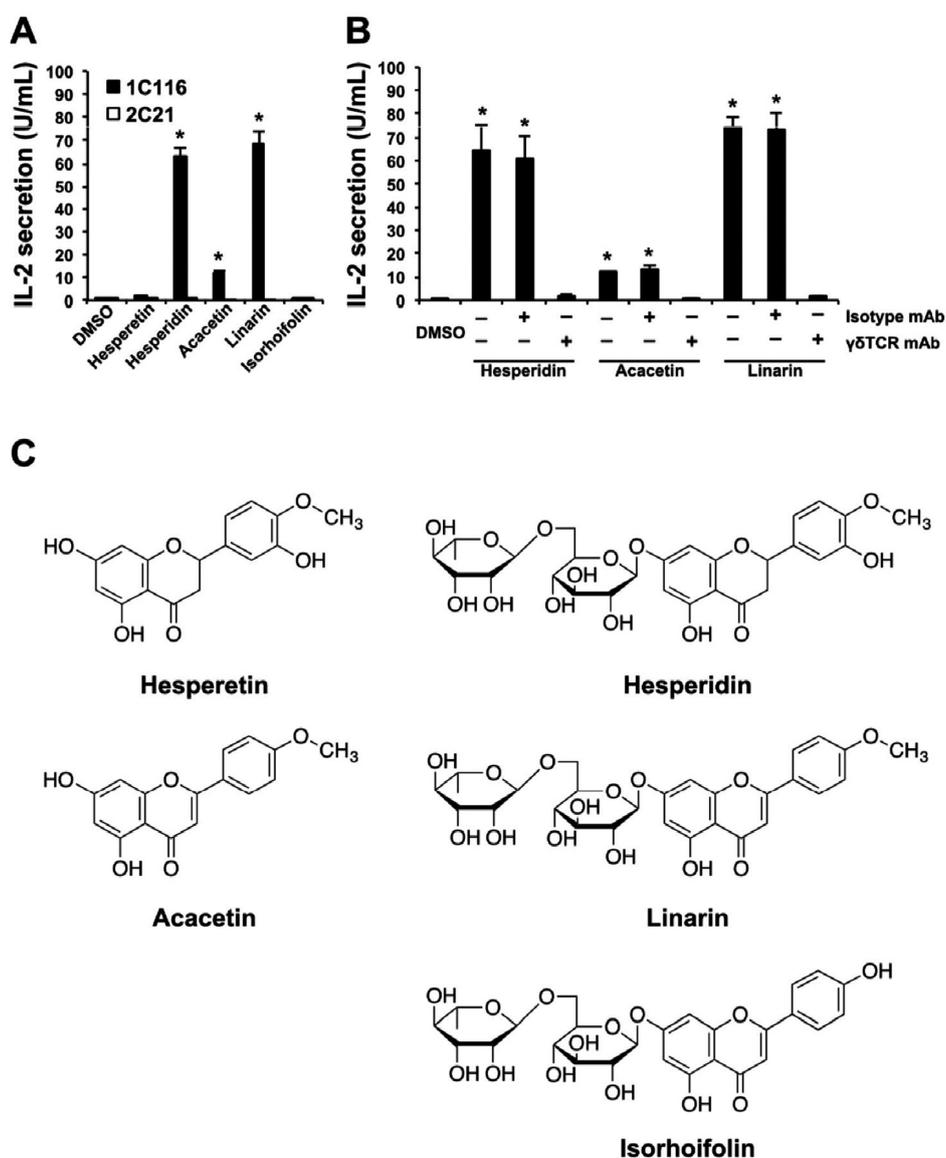


図 6 I 型  $\gamma\delta$  細胞 (1C116 細胞株) から IL-2 放出を促すフラボノイドグリコシド (文献 5 改変)

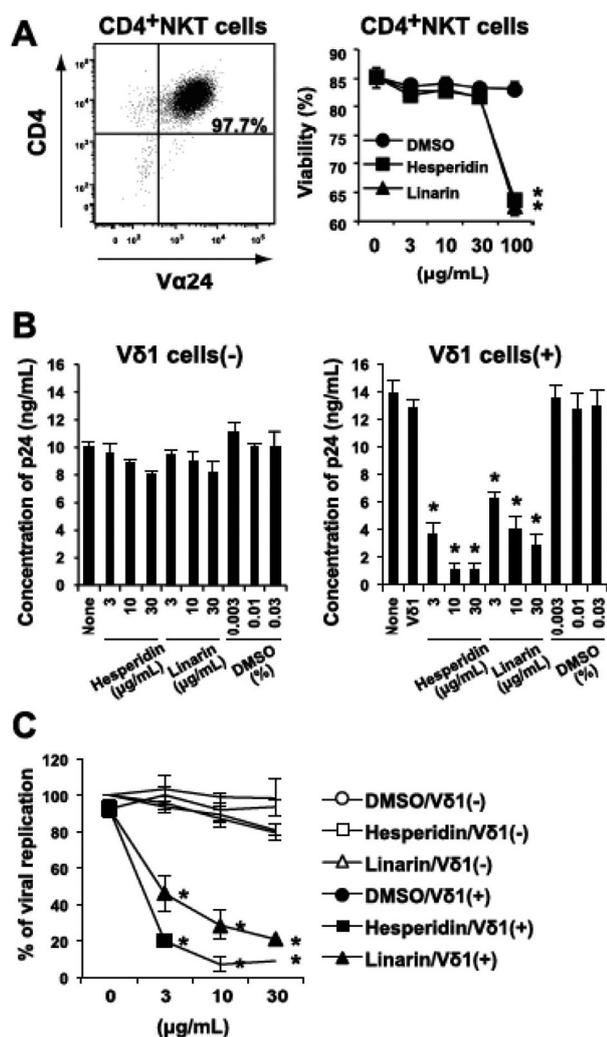


図 7 フラボノイドグリコシドにより活性化された I 型  $\gamma\delta$  細胞による NKT 細胞内での R5-type HIV-1 複製の抑制 (文献 5 改変)

Hesperidin あるいは Linarin が存在する場合にはウイルスの増殖が優位に抑制されるが、存在しない場合にはまったく増殖が抑制されない。このことは、単独では抗 HIV 効果を有さないものの、“陳皮”や“枸杞子”、“菊花”に含まれるフラボノイドグリコシドで刺激された場合には、明らかな抗 HIV 効果を発揮することを物語っている。

そしてこの効果は、フラボノイドグリコシドで刺激された I 型  $\gamma\delta$ T 細胞から放出される MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES などのケモカインや IL-5, IL-13 などのサイトカインによって惹起されるものであると推測される。

### おわりに

現在われわれは、今回お示した糖化フラボノイド Hesperidin あるいは Linarin で活性化された V $\gamma$ 1V $\delta$ 1 型  $\gamma\delta$

細胞 (V $\delta$ 1 (+) 細胞) が、R5-type HIV-1 の増殖を CD4 陽性の NKT 細胞内のみならず、CD4 陽性の T 細胞内においても抑制することを見出している。こうした、漢方薬に含まれる多数のフラボノイドおよび糖化フラボノイド群は、I 型  $\gamma\delta$  細胞を活性化し、HIV-1 のみならず多くの細胞内でのウイルス増殖を抑制する可能性がある。本研究の成果が、新たなウイルス制御の道を開くことになれば、筆者望外の喜びである。

利益相反：本研究において利益相反に相当する事項はない。

### 文 献

- 1) Squires K, Kityo C, Hodder S, Johnson M, Voronin E, Hagins D, Avihingsanon A, Koenig E, Jiang S, White K, Cheng A, Szwarcberg J, Cao H : Integrase inhibitor versus protease inhibitor based regimen for HIV-1 infected women (WAVES) : a randomised, controlled, double-blind, phase 3 study. *Lancet HIV* 3 : e410-e20, 2016.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) Tanaka Y, Morita CT, Tanaka Y, Nieves E, Brenner MB, Bloom BR : Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human  $\gamma\delta$  T cells. *Nature* 375 : 155-158, 1995.
- 5) Yonekawa M, Shimizu M, Kaneko A, Matsumura J, Takahashi H : Suppression of R5-type of HIV-1 in CD4(+) NKT cells by Vdelta1(+) T cells activated by flavonoid glycosides, hesperidin and linarin. *Sci Rep* 9 : 7506, 2019.
- 6) 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.
- 7) Das H, Wang L, Kamath A, Bukowski JF : V $\gamma$ 2V $\delta$ 2 T-cell receptor-mediated recognition of aminobisphosphonates. *Blood* 98 : 1616-1618, 2001.
- 8) Kamath AB, Wang L, Das H, Li L, Reinhold VN, Bukowski JF : Antigens in tea-beverage prime human V $\gamma$ 2V $\delta$ 2 T cells *in vitro* and *in vivo* for memory and nonmemory antibacterial cytokine responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 6009-6014, 2003.