



解説

T細胞によるHIV-1の増殖制御*

滝口雅文**

Key Words : HIV-1, CTL, viral suppression, escape, HLA

はじめに

HIV-1感染症では、細胞性免疫、液性免疫が誘導されるにもかかわらず、これらの免疫系により生体からHIV-1は排除されることはなく、いずれ免疫系組織を破壊し、エイズを発症させる。しかし多くの研究がなされているにもかかわらず、免疫系がなぜHIVを排除できないか、いまだ明らかになっていない。最近のHIV-1の細胞性免疫の研究分野に関する研究の進展を紹介する。

HIV感染に対する生体の免疫反応

ウイルスが感染すると抗原提示細胞を介してヘルパーT細胞が認識し、細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導と特異的抗体の産生が起こる。普通は感染してから少なくとも1週間後にはCTLの誘導が起きており、その活性を測定することができる。一方この時にはすでに抗体の産生もみられており、多くのウイルス感染症においては2週間でその産生はピークに達する。CTLはウイルスが感染した細胞を認識し、その細胞を殺すことによりウイルス増殖の場をなくす。一方抗体、とくに中和抗体は血中のウイルス粒子そのものに結合し、ウイルスを不活性化させる。そのほかNK細胞などもウイルス感染細胞を認識して細胞傷害活性を示すと考えられている。これらの免疫系の反応によってウイルスは完全に生体から排除される。

一方HIV-1の感染では、CD4陽性T細胞がその標的細胞であるため、感染初期にその数が一時的に減少する。しかし、CTLによってこのHIV-1感染CD4陽性細胞は排除され、ほとんどの例でCD4陽性細胞は正常まで回復する。抗体の産生は、やや遅れてみられることがあり、とくに感染してから1~2か月間その産生がみられないこともある。他のウイルス感染と異なっているのは、HIVは免疫系によって完全に排除される事はきわめて稀であり、生体内に残り続ける。数年後にウイルス量は増大し、エイズを発症する¹⁾。低レベルのウイルス量が持続することは、おそらく生体内で免疫系がウイルスの増殖を抑えているのではないと考えられている。しかしなぜ免疫系がHIV-1を完全に排除できないのか、またある期間を経ってからHIVがなぜ増殖しはじめて来るのかその機序は十分には明らかになっていない。

細胞傷害性T細胞(CTL)による HIV-1抗原認識とHIV-1の増殖抑制

ウイルスが感染した細胞では、細胞質内で合成されたウイルス蛋白は、細胞質内のプロテアゾームに運ばれて、ペプチド化される。さらにペプチドは、粗面小胞体の膜(ER)にあるトランスポーターと呼ばれるレセプターを介してER内に取り込まれる。ER内に運ばれたペプチドはMHCクラスI抗原の重鎖および $\beta 2$ マイクログロブリン($\beta 2m$)とともに結合して安定したクラスI分子を

* Suppression of HIV-1 replication by HIV-1-specific CD8 T cells.

** Masafumi TAKIGUCHI, M.D. & D.Med.Sci.: 熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野〔☎860-0811 熊本市本荘2-1-1〕; Division of Viral Immunology, Center for AIDS Research, Kumamoto University, Kumamoto 860-0811, JAPAN

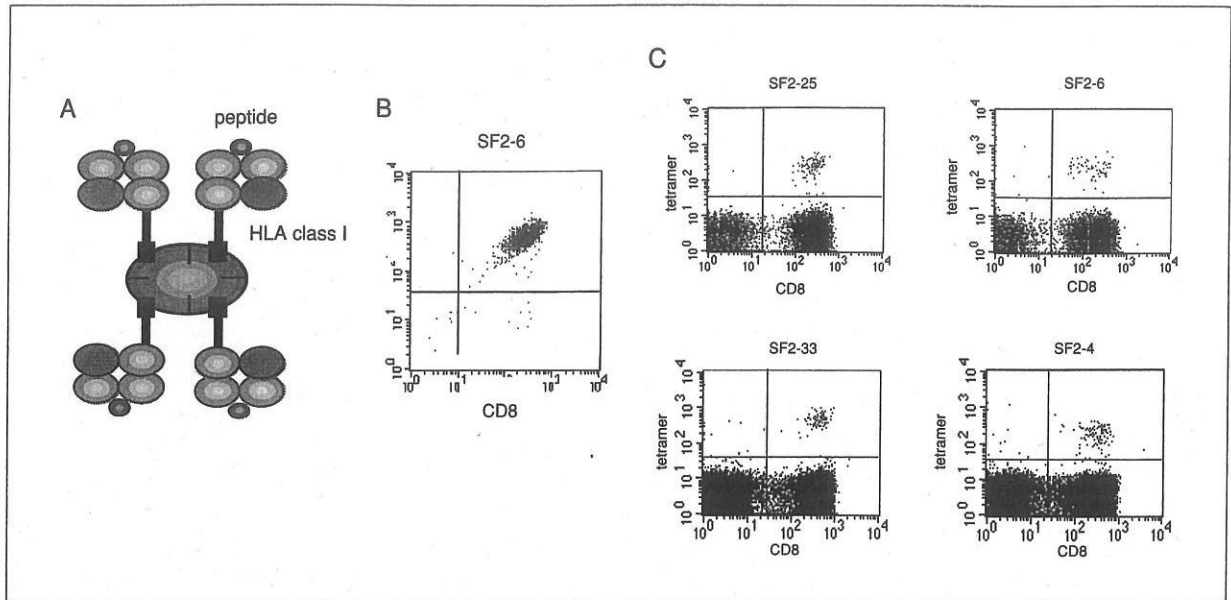


図1 HLAクラスIテトラマーによるCTLクローンへの特異的結合

- A : HLAクラスIテトラマー。C末端をビオチン化したHLAクラスI分子に目的のエピトープペプチドと β_2 ミクログロブリンを結合させる。この分子を4つ標識したアビチンに結合させることで、TCRに結合できるテトラマーができる。
- B : テトラマーのCTLクローンへの特異的結合。HLA-B*3501拘束性エピトープ SF2-6(RPQVPLRPMTY)特異的CTLクローンへの特異的ペプチドの結合。
- C : HLAクラスIテトラマーを用いたHIV-1感染者末梢血中の特異的CD8⁺ T細胞の解析。HLA-B*3501拘束性エピトープを結合させたHLA-B*3501テトラマー(4種類)と抗CD8⁺抗体を用いたHIV-1感染者末梢血単核球中のHIV-1特異的CD8⁺ T細胞の解析。SF2-25(EPIVGAETF), SF2-6(RPQVPLRPMTY), SF2-33(DPNPQEVVL), SF2-24(IPLTEEAEL)。

形成する。このMHCクラスI抗原はさらに膜輸送にて、細胞表面へと運ばれる。細胞表面へと運ばれたMHCクラスI分子は、T細胞レセプター(TCR)によって認識される。HIV-1抗原に特異的なCTLは、TCRを介してMHCクラスI分子に結合した特異的なウイルス蛋白由来のペプチド(エピトープ)を認識する。TCRはMHC分子とそれに結合したペプチドのアミノ酸残基に結合し、シグナルを細胞内に伝達してその機能を発現させると考えられている。HIV-1感染細胞においても同様な機序で、HIV-1エピトープペプチドはMHCクラスI分子に結合し、細胞表面に運ばれ特異的CD8T細胞に認識されると考えられる。

CTL活性の測定は、⁵¹Cr releasing assayによってほとんどの場合おこなわれてきた。この方法はアイソトープが使える施設に限られること、effector : target ratioやtarget細胞の種類によって得られるデータに差が出ること、実験日や実験者間における誤差などさまざまな問題がある。これらの問題を解決するために、エピトープペ

プチドを結合させたHLAクラスI分子を標識し、これをTCRに結合させて、CTLをフローサイトメトリーで測定する方法が考えられた。しかし、HLAクラスI分子とTCRの結合能は、抗原と抗体の結合と比べて1000分の1以下であり、今まではこの方法による測定は不可能であった。Altmanらは²⁾、CTLエピトープペプチドを結合させたHLAクラスI分子を4つ結合させたAvidin(テトラマー)を用いることにより、特異的TCRをもったT細胞をフローサイトメトリーで解析できることを可能にした(図1A, B)。この方法は凍結させておいたサンプルをそのまま解凍しても測定でき、抗体と組み合わせて多色染色することにより多くの情報を得ることができ、きわめて有効な手段である。このテトラマーを用いたHIV-1感染者の末梢血の解析で、HIV-1感染者は感染初期から多数のHIV-1特異的CD8⁺ T細胞が誘導されており³⁾、慢性感染期でもこの特異的CD8⁺ T細胞は維持されていることが明らかになった(図1C)。

HIV-1特異的CD8T細胞は、主に2つの機序で

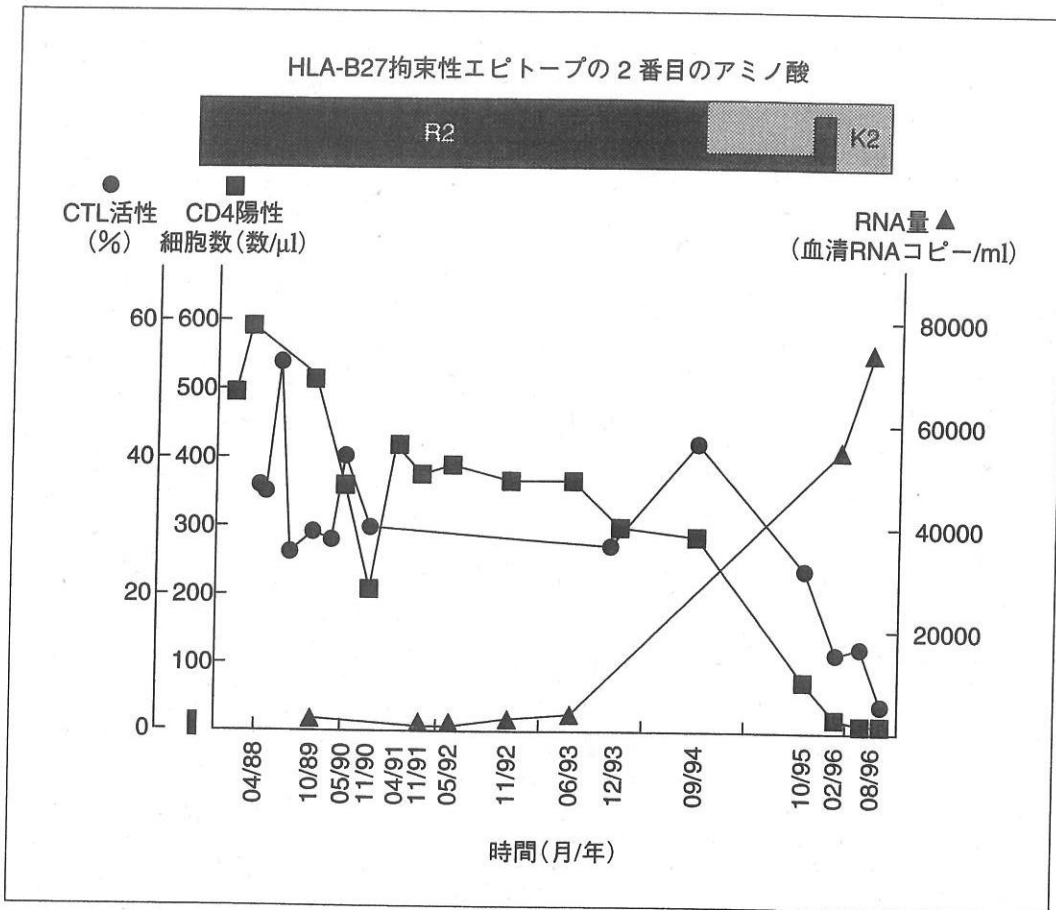


図2 HLA-B27拘束性CTLエピートープ上に生じたエスケープミュータントによるAIDSの発症
 唯一のB27エピートープKPWIMGLNK上の2番目のアミノ酸ArgがLysに変異したウイルスが出現
 すると血中CD4陽性T細胞が低下し、AIDSが発症した。KPWIMGLNKに特異的CTLはこのミュー
 タントエピートープを認識できない。

HIV-1の増殖を抑制していると考えられる。第一に、抗原認識によりTCRから刺激が入ると、perforinやgranzymeを放出し、これによりHIV-1感染細胞を傷害してHIV-1の増殖の場を奪うことにより、生体内でのHIV-1増殖を抑制しようとするものである。もう1つはTCRから刺激が入るとHIV-1特異的CD8T細胞からサイトカインを産生し、これらのサイトカインによってHIV-1の細胞内への侵入を阻止したり、HIV-1自体の増殖を抑制するものである。前者には、MIP-1やRANTESのようなケモカインがあり、後者にはIFN- γ などがある。主にこれらの2つの機序により、HIV-1の増殖が抑制されると考えられる。実際長期未発症者ではHIV-1に対する高いCTL活性が維持されているという事例⁴⁾やハイリスク集団の中にHIVの感染から免れているが高いHIV特異的なCTL活性が認められるケース⁵⁾があり、またサルSIVでは、CD8T細胞を取り除くとエイズが発症する

ことが知られている⁶⁾。これらのことから、CTLがHIV-1の増殖抑制に大きな役割を果たしていることは明らかである。

HIVのCTLからの逃避機序

それでは、どうしてHIV-1はCTLからの逃避が可能なのであろう。この質問の答えを示唆する研究が報告された。その1つは、HIVに感染後、きわめて短時間(1年以内)にエイズを発症した患者のケースである⁷⁾。この患者では、感染してすぐにEnv蛋白質上のたった1つのエピートープに対して強いCTL活性がみられた。しかし約1か月後にこのエピートープ上にCTLが認識できなくなってしまう変異をもったウイルスが出現すると、CTLからの攻撃を逃れることができるためウイルスは急速に増殖して、患者の免疫系を破壊してしまったのである。もう1つの例は、長期未発症生存者の例である⁸⁾。この患者はHLA-B27によつ

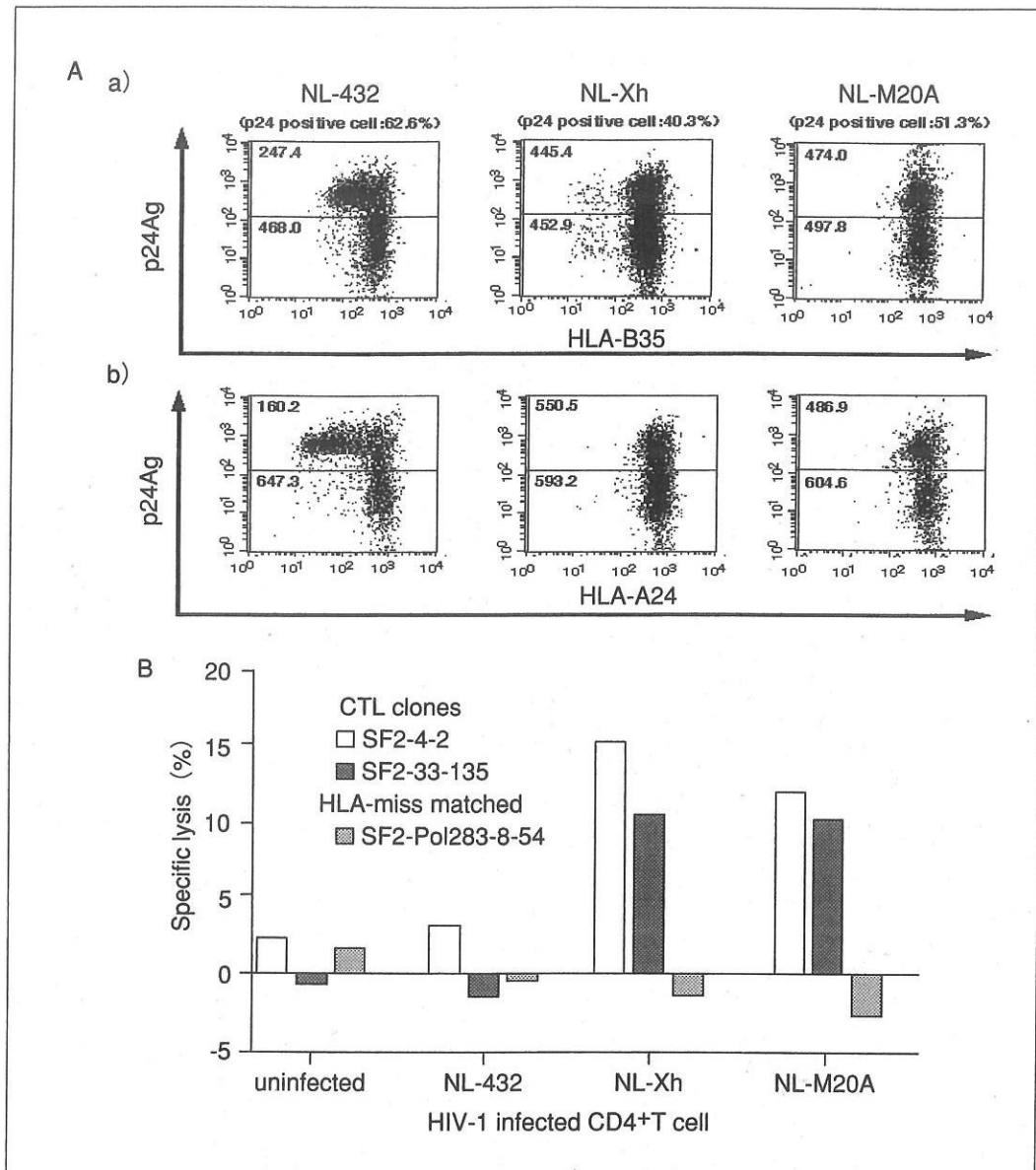


図3 HIV-1感染細胞でのHLAクラスI抗原の細胞表面のdown-regulation

A: HIV-1 Nef欠損株(NL-Xh)およびNefの変異株(NL-M20A)感染CD4T細胞では、(a)HLA-B35および(b)HLA-A24抗原の細胞表面の発現低下はわずかしき起さない。一方Nefを欠損していないHIV-1 NL4-3株を感染させた細胞では、HLA-B35およびHLA-A24の著しい細胞表面上の発現の低下がみられた。

B: NL-Xh, NL-M20AおよびNL4-3株を感染させたCD4T細胞に対する特異的CTLクローン(SF2-4-2, SF2-33-135)の細胞傷害活性。NL-Xh, NL-M20Aを感染させたCD4 T細胞に対しては細胞傷害活性を示したが、NL4-3株を感染させたCD4 T細胞には細胞傷害活性を示さなかった。

て提示される唯一のCTLエピトープに対して強い活性を保っており、血中のウイルス量も低く押さえられていた。しかし、このエピトープ上にCTLが認識できなくなるような変異を生じたウイルスが出現すると、この変異ウイルスは生体内で増殖してやはり患者の免疫系を破壊し、エイズを発症させたのである(図2)。さらに同様なケースがHLA-B57をもった患者でも報告されている⁹⁾。

以上のケースはHIV-1に感染した人の中ではきわめて稀なケースといえる。なぜなら一般的には、生体内に強く認識されるCTLエピトープは1つでなく、少なくとも何種類もあるはずである。しかし、これらのケースは、CTLエピトープ上の変異の蓄積が、CTLからの攻撃を逃れるウイルスの出現を生み出すことを示唆している。この結果数年という期間を経てCTLエピトープを多数もつ

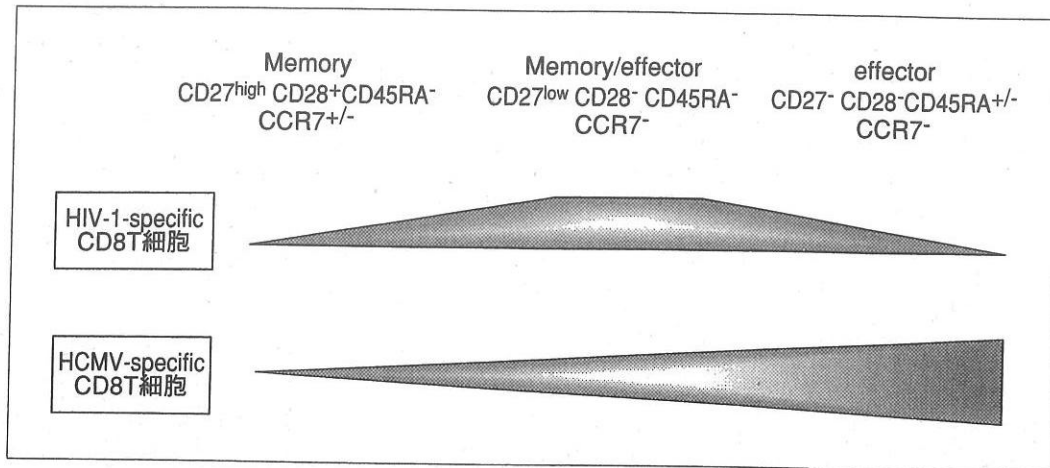


図4 HIV-1特異的CD8T細胞とヒトサイトメガロウイルス(HCMV)特異的CD8T細胞の分化・成熟度の違い

ているような感染者でもCTLが認識できないようなウイルスが出現し、エイズを発症すると考えられる。今後このようなCTLエスケープミュータントの蓄積が多くのHIV-1感染者で起こっているのか検討することが重要であると考えられる。

一方Nef蛋白が欠損したHIV-1に感染した細胞では、HLAクラスI抗原の発現は感染していない細胞と比べても変わらないが、Nef蛋白が欠損していないHIV-1に感染した細胞ではHLAクラスI抗原の発現が低下することが知られている(図3A)。HIV-1の感染によってHLAクラスI抗原が低下することにより、HIV-1の抗原提示が低下し、これによりCTLから認識をHIV-1は逃避するという研究が報告されている(図3B)¹⁰⁾¹¹⁾。しかしHIV-1感染によるHLAクラスI抗原の低下はHIV-1が細胞に感染してから相当の時間がたってから起こる現象と考えられ、実際に生体内でどれほどの影響を与えるかはまだ明らかでない。

最近、HIV-1慢性感染者では、HIV-1特異的CD8 T細胞はeffectorまで分化しておらず(図4)、分化・成熟異常があるため十分その機能を示せないのではないかという報告がされている¹²⁾。しかしその証拠は十分とはいえ、今後の解析が期待される。

おわりに

免疫がなぜHIV-1を完全に排除できないのか、また免疫系とHIV-1との間で長い間バランスをとっていた状態が突然変わりHIV-1が増殖してしまう

のか、依然これらの質問には十分にまだ答えられていない。今後さらなるこの分野の研究によって、HIV-1の免疫逃避機序の解明ができることが期待される。これらの機序の解明は、免疫を用いた治療の開発につながる。実際、化学療法の限界がみえてきており、治療ワクチンの開発が強く望まれている。

文 献

- 1) Nowak MA, McMichael AJ. How HIV defeats the immune system. *Sci Am* 1995 ; 273 : 58.
- 2) Altman JD, Moss PA, Goulder PJ, et al. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science* 1996 ; 274 : 94.
- 3) Wilson JD, Ogg GS, Allen RL, et al. Direct visualization of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes during primary infection. *AIDS* 2000 ; 14 : 225.
- 4) Klein MR, van Baalen CA, Holwerda AM, et al. Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection : a longitudinal analysis of rapid progressions and long-term asymptomatics. *J Exp Med* 1995 ; 181 : 1365.
- 5) Rowland-Jones S, Sutton J, Ariyoshi K, et al. HIV-1 specific cytotoxic T cells in HIV-exposed but uninfected Gambian women. *Nat Med* 1995 ; 1 : 59.
- 6) Schmits JE, Kuroda MJ, Santra S, et al. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science* 1999 ; 283 : 857.

- 7) Borrow P, Lewicki H, Wei X, et al. Antiviral pressure exerted by HIV-1-specific cytotoxic T lymphocyte (CTLs) during primary infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus. *Nat Med* 1997 ; 3 : 205.
- 8) Goulder PJ, Phillips RE, Colbert RA, et al. Late escape from an immunodominant cytotoxic T-lymphocyte response associated with progression to AIDS. *Nat Med* 1997 ; 3 : 212.
- 9) Leslie AJ, Pfafferoth KJ, Chetty P, et al. HIV evolution : CTL escape mutation and reversion after transmission. *Nat Med* 2004 ; 10 : 282.
- 10) Collins KL, Chen BK, Kalams SA, et al. HIV-1 Nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature* 1998 ; 391 : 397
- 11) Tomiyama H, Akari H, Adachi A, et al. Different effects of Nef-mediated HLA class I down-regulation on HIV-1-specific CD8⁺ T cell cytolytic activity and cytokine production. *J Virol* 2002 ; 76 : 7535.
- 12) Champagne PG, Ogg S, King AS, et al. Skewed maturation of memory HIV-specific CD8 T lymphocytes. *Nature* 2001 ; 410 : 106.

* * *