

12. HIV (1)

—免疫応答による HIV 感染・増殖の制御—

松下 修三

HIV (human immunodeficiency virus) 感染症も他のウイルス感染と同じで、感染後すぐに細胞性・液性の免疫応答が起こり、ウイルスの増殖抑制に作用する。しかし、HIV は排除されずに持続的に増殖し、CD4⁺ヘルパー T 細胞を破壊して、宿主を免疫不全に至らしめる。慢性感染期にも細胞性・液性の免疫応答が検出されるが、いずれも不十分で、免疫をエスケープする変異株の出現を許し、最終的には有効な免疫応答はみられなくなる。これらの一連のプロセスは感染初期に HIV 特異的 CD4⁺ヘルパー T 細胞が破壊されるためにおきると考えられている。HIV の初感染では急性ウイルス感染症に共通の全身症状があらわれる。この時点で、強力な抗ウイルス剤による治療が行なわれると、HIV 特異的ヘルパー T 細胞が温存され、感染者の予後を改善すると報告された。我が国でも、急性（初）感染症例がまれではなくなっている現状を踏まえ、日常診療の場でも常に HIV 感染症を鑑別診断として考慮することが重要である。

はじめに

後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome; AIDS) が初めて報告されてから21年になる^{1,2)}。AIDS の原因ウイルスは、1983年にフランスで、1984年に米国で分離され、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus; HIV) と呼ばれるようになった。AIDS はそれまで全く知られなかった新興感染症の一つであり、HIV に感染して AIDS を発症するまでには長い潜伏期間があることや性行為や麻薬常習者の注射針の共用などで感染するという要因から、1980年代にはすでに全世界に拡大していた。

いったん HIV に感染すると根治する方法はなく、多くの感染者で免疫不全は進行性で死亡率も高く、現代の黒死

病と恐れられた。我が国でも血友病の症例に対し HIV が混入した血液製剤が用いられ、次々と免疫不全で死亡するという悲劇をもたらした。しかし、最近、病気の進行や治療の指標となるウイルス量 (HIV-RNA) が定量できるようになり、またプロテアーゼ阻害剤などの強力な抗ウイルス剤の多剤併用療法 (highly active antiretroviral therapy, HAART) が導入され、免疫不全の進行を阻止することが可能となってきた。また、HAART 導入後6年を経過した現在、その問題点も明らかとなってきた。すなわち、HAART で血中ウイルス量が測定感度以下の症例でも完全なウイルス増殖阻止は得られないことがわかり、また副作用や薬剤耐性のために治療困難となった症例が増加してきたのである。このような状況のなかで、HAART 導入後の病態解析にもとづいた新しい治療戦略が求められている³⁾。

1. 急性（初）感染時の諸症状と免疫応答

我が国では比較的まれと考えられてきたが、最近感染者の急増に比例して、急性（初）感染と考えられる症例が増加している。急性感染では表1に示すような伝染性単核球症に類似した非特異的症候を呈することが多いが、無症状

熊本大学エイズ学研究センター，病態制御分野
(〒860-0811 熊本市本荘2-2-1)

Immune control of HIV-infection and replication
Shuzo Matsushita MD, PhD

Division of clinical retrovirology and infectious diseases,
Center for AIDS Research, Kumamoto University
2-2-1 Honjo Kumamoto 860-0811, Japan

の場合もある。また、陰部ヘルペスや梅毒などのSTDの初感染症状で来院することも多く、STDの症例では必ずHIV感染の可能性を念頭に置いて検査を勧めるべきである。なぜならば、初感染時にはHIVに対する細胞性免疫が保たれていてこの時期に強力なHAARTをおこなうことにより長期非進行症例のように抗ウイルス剤を用いなくてもウイルスの増殖をコントロールできる可能性があるからである。

多くのウイルス感染症と同様に、HIVに感染した個体では細胞性・液性の免疫応答がみられる。図1Aに示すようにHIV感染後早期におこる高いレベルのウイルス血症に引き続き、HIV特異的な細胞傷害性T細胞(cytotoxic T-lymphocyte; CTL)の反応が見られる。限界希釈法やHLA-抗原ペプチド複合体の4量体からなるテトラマーをもちいて検索すると、CTLの反応はウイルス血症のピーク時に高くその後ウイルス血症が「セットポイント」に落ち着いてくると減少し、あるレベルを保つことが知られている^{4,5)}。CTLの反応が活発におこっているときは、発熱、咽頭痛、リンパ節腫脹、皮疹などの初感染症状がおこって

いるときであり、通常2～4週間続いて自然軽快する。また最近の初感染時の早期治療および引き続き計画的な中断療法(structured or supervised treatment interruption; STI)の研究から初感染時にはHIV特異的ヘルパーT細胞が十分数あり、この時期にHAARTでウイルス血症を抑えると抗ウイルス細胞性免疫が保たれ、生体内でのウイルスの増殖をコントロールすることが可能となるのではないかと考えられている⁶⁾。

初感染時の細胞性免疫については動物モデルでの証明がある。すなわち、CD8抗体でCTL反応が起こらないように処理したサルにサル免疫不全ウイルス(simian immunodeficiency virus; SIV)を感染させると細胞性免疫でのウイルス増殖のコントロールがないため、高いウイルス血症の持続が観察された⁷⁾。この初感染時におこる細胞性免疫反応はCD8細胞の10%にも及ぶ強力なもので、少数のドミナントクローンで構成されている。このことが、慢性期においてそのクローンの消耗(clonal exhaustion)やエスケープ変異株の出現という結果を起こしていると推測されている^{8,9)}。

一方、液性免疫の研究では、中和抗体が初感染からかなり時間が経って高いレベルのウイルス血症がおさまったころ出現することから、初感染時のウイルス血症のコントロールには貢献していないだろうと考えられてきた(図1A)。さらに、患者本人から分離した自己由来の分離株をもちいた場合、高力価の中和抗体を持つ患者も少ないと考えられている。最近の知見では、初感染時にHAARTで治療し、その後治療を中断した場合、リバウンドウイルス

表1 HIV-1の急性感染の症状

全身症状	発熱、咽頭炎(痛)、リンパ節腫脹、関節痛、筋肉痛、疲労感/倦怠感、食欲不振/体重減少など
神経症状	頭痛、髄膜炎、末梢神経炎、ギランバレー症候群、など
皮膚症状	丘疹性紅斑、蕁麻疹、脱毛、皮膚粘膜潰瘍
消化器症状	口腔(食道)カンジダ症、嘔気、嘔吐、下痢

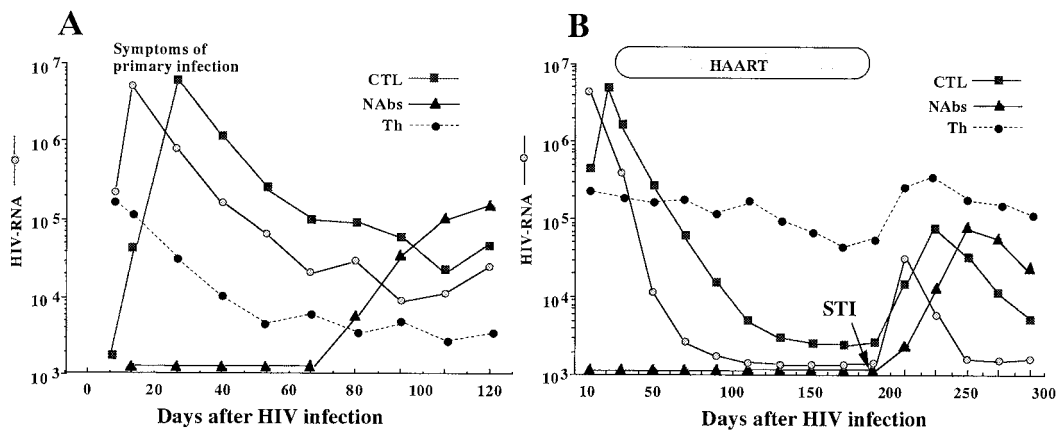


図1 HIV急性感染時の免疫応答(理論図)

A;急性感染時に無治療の場合、HIV-RNAで 10^6 /mlにも及ぶ高いレベルのウイルス血症がおこる、引き続き細胞傷害性T細胞(Cytotoxic T-Lymphocyte: CTL)の活性化が見られる。HIV特異的ヘルパーT細胞(Th)は感染初期にかなり失われる。一方、中和抗体(Neutralizing Antibodies: NAb)はウイルス血症がセットポイントに落ち着いてきたころに検出される(文献4より改変)。B:急性感染時にHAARTで治療されるとHIV-RNAは早期に減少し、CTLも引き続き減少する。中和抗体を含めた液性免疫応答は低いレベルの応答しか見られないが、ヘルパーT細胞(Th)が温存されているため治療中断後、HIVがリバウンドしてくるとすぐに反応し細胞性・液性の免疫応答でウイルスの増殖を抑え込むことができる(文献10, 17より改変)。STI; Structured treatment interruption(計画的治療中断)。

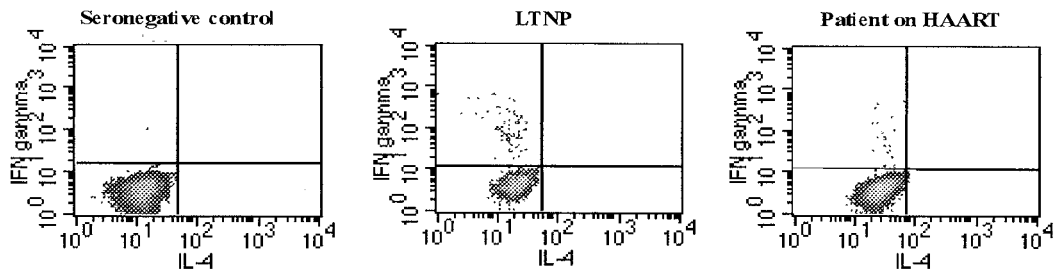


図2 HIV抗原刺激による γ -IFN産生CD4⁺細胞の誘導

末梢血単核球をHIV抗原刺激後20時間培養し、細胞内の γ -IFNおよびIL-4をフローサイトメーターにて解析した。HIV抗原刺激によって γ -IFNを産生する細胞は、LTNPでは強く誘導されたが、HAARTによって長期間ウイルスの増殖を抑制できた症例においては弱いものであった。

の増殖抑制に中和抗体が貢献していることが示されている(図1B)¹⁰⁾。中和抗体がウイルスの増殖を抑制できる理由は、感染初期にHAARTで治療することによって、ウイルスの変異を小さくすることができたためではないかと考えられている。

2. 慢性感染期の病態と細胞性免疫反応

慢性感染の状況でもHIV特異的CD8⁺T細胞は高頻度で維持される¹¹⁾。通常CD8⁺T細胞の1~2%がHIVのドミナントエピトープに特異的なものであり、末梢血のみならずリンパ節にも存在し、EBVやCMVと同様に10⁹個のCD8⁺T細胞が単一のエピトープに対して存在している。これらは常にターンオーバーし、*ex vivo*ではすぐにアポトーシスを起こしてしまうと考えられる¹²⁾。このように高いレベルの反応T細胞が維持されているのは持続的な抗原刺激があるからで、HAARTにてHIVの増殖が抑制されると45日位の半減期で減少していくことがわかっている¹³⁾。無治療で免疫不全が進行し、AIDS発症に至る場合もHIV特異的CD8⁺T cellは高頻度に残存している。これらの細胞は急性感染期と同様にしばしばオリゴクローナル(oligoclonal)であり、T細胞レセプターファミリーの偏りから判断すると5年以上にわたり同じ細胞が維持されると考えられる。このことはこれらの細胞の寿命が長い、なかなか消耗しないためと言われている^{14,15)}。しかし、これらのHIV特異的CD8⁺T細胞はCMV特異的CD8⁺T細胞とは異なりパーフォリン含有量が少なく、CD27+CCR7⁻CD45RA⁻である。一方、CMVの場合CD8⁺メモリー細胞はCCR7+CD45RA+であり、エフェクター細胞として効果をもつ細胞はCCR7⁻CD45RA+の細胞である。HIV感染でみられるこのようなCD8⁺T細胞の分化成熟の異常の原因はCD4⁺のヘルパーT細胞の欠損によると考えられている¹⁶⁾。

図2に示すように、無治療でHIVの増殖を長期にわたって抑制できている長期非進行例(long-term nonprogressor; LTNP)では、HAART治療中の一般の感染症例に

比べてHIV抗原に反応してサイトカインを産生するCD4⁺のヘルパーT細胞が有意に残存している。すなわち、感染初期にHAARTでHIVの増殖を抑制できればHIV特異的CD4⁺のヘルパーT細胞を温存でき、以後のHIV増殖のコントロールが可能になるが、初感染時に無治療の場合、HIV感染の極初期にHIV特異的ヘルパーT細胞の多くはHIVに攻撃され、死滅していると考えられる。その理由は、HIV抗原も樹状突起細胞(dendritic cell; DC)によって呈示されるが、HIVはDCに感染することなく、DC-SIGNという分子に結合しており、抗原刺激のためにやってくるヘルパーT細胞に次々と感染してこれを死滅させるのである¹⁷⁾。このように感染初期には存在するヘルパーT細胞が低下していくにつれ、CD8⁺T細胞のメモリーの維持や機能の低下が起こってくる。

また、T細胞の活性化かかわるサイトカインやそのリガンドの異常も指摘されている。例えば活性化されたヘルパーT細胞にCD40LがなければDCにIL12を産生させることができない。IL12はCD8⁺T cellの反応を新しくはじめるのに必要なサイトカインである。このことは初感染時に反応したいくつかのCTLからエスケープしたウイルスに対して新しいCTL反応が起こりにくくなっていることを示している。またすでに存在するCTLもIL2などのサイトカインが不足して、その数を十分に保てないと考えられるが、一部のクローンは長期にわたり、メモリー状態で維持されている。動物モデルでも、CD4⁺ヘルパーがない状況では、テトラマーに染色されるCD8⁺cellはたくさんあるが機能がない状況が報告されている¹⁸⁾。細胞性免疫反応はいくつかのドミナントエピトープに対して起こるが、同様のHLAをもった症例でも症例ごとに反応するエピトープが異なっている。このことはドミナントでないエピトープに対するCTLの反応が不十分であることを示している。

SIVでの研究では感染後数ヶ月のうちにドミナントCTLエピトープに多数の変異が観察された¹⁹⁾。ウイルスは変異株の出現以外にもnefによるHLA class Iのダウン

モジュレーションや Fas リガンドの upregulation さらには潜伏感染などのメカニズムで CTL の攻撃をまぬがれている。HIV がこのように CD 8⁺T cell の反応から免れるメカニズムについて表 2 に示した。

表 2 HIV-1 が CD 8⁺T 細胞の攻撃をのがれる機序

潜伏感染 (Provirus Latency)	抗原発現の欠如
聖域での増殖 (Sequestration)	免疫細胞が到達できない
コレセプター使用の変化 (Switch to CXCR 4 receptor)	CC chemokine 不応性
HLA class I 抗原の down regulation	CD 8 ⁺ T cell 不応性
HLA class II 抗原の down regulation	CD 4 ⁺ T cell 不応性
Fas ligand の up regulation	T cell を逆に傷害
エピトープの変異	T 細胞認識の低下
	アンタゴニズム

3. 慢性感染期の HAART の導入と中和抗体

我々は慢性感染期の症例に対して HAART を開始する前に分離した自己由来の分離株に対する中和抗体活性を 19 例の症例について解析した²⁰⁾。治療開始前から高い中和活性を持つ症例は 2 例のみで、のこりのほとんどは中和抗体活性が検出されないか低いレベルであった。HAART 開始後 12ヶ月から 28ヶ月に渡って中和活性を調べていくと、治療開始後 12ヶ月から 18ヶ月経過して中和抗体活性の上昇が観察できる症例が 4 例あった。図 3 に示すようにこれらの中の 3 例は治療開始から 6~12ヶ月の間は自己由来の分離株に対する中和抗体活性は認められないがそれ以降有意に活性の増強が観察された。他の症例と臨床経過を比較すると、これらの症例はいずれも HAART 開始時の CD 4⁺

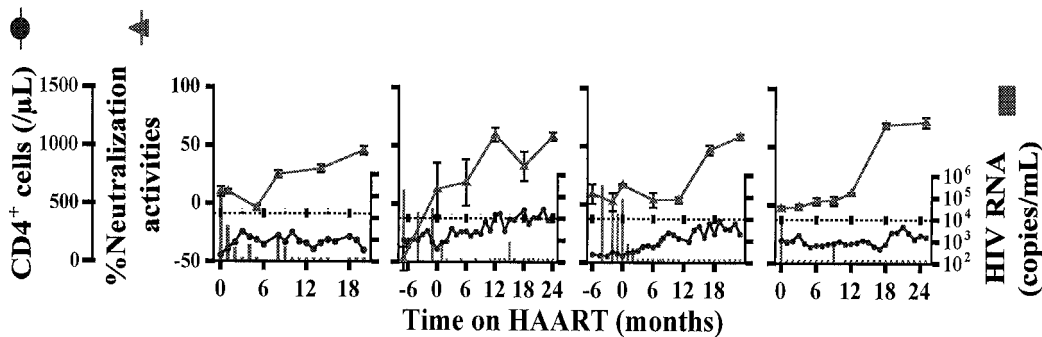


図 3 HAART 下における自己由来 HIV に対する中和抗体活性の獲得
HAART にて日和見病原体に対する免疫応答の回復は得られるが、HIV に対する免疫応答は回復しないと考えられてきた。今回我々は、19 症例について、HAART 開始後 12 から 25 ヶ月間にわたり、自己由来 HIV-1 に対する中和抗体活性の変化を検討した。図に示す 4 症例において HAART 開始後 12~18 ヶ月後から中和抗体活性の有意な上昇が認められた。

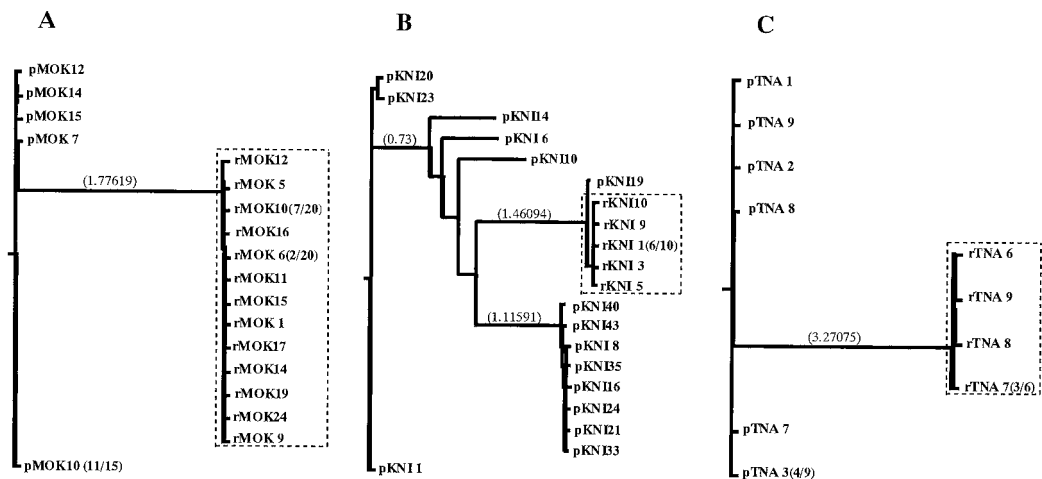


図 4 自己の分離株に対する中和抗体陽性症例での Baseline と Rebound Virus の系統樹解析。
自己の分離株に対して中和抗体活性を認めた症例のなかで 3 症例に Viral Rebound が見られた。治療開始前のウイルス (p) とリバウンド時のウイルス (r) のエンベロープ gp120 の V 1~V 4 を多クローン解析にてシーケンシ NJ 法にて系統樹解析した。Rebound Virus のクラスターは破線で囲んで示した。それぞれの症例の Baseline と Rebound のクローンは A ; 症例 1 pMOK と rMOK, B ; 症例 2, pKNI と rKNI, C ; 症例 3, pTNA と rTNA である。

細胞数が少なかった。また、中和抗体価の上昇を認めた4例中3例では経過中に低レベルのウイルスのリバウンド(“blips”と呼ばれている)が検出されており、免疫再構築のためにはむしろCD4⁺細胞数が減少していることと、なんらかの免疫刺激があることが重要と推測された。

また自己の分離株に対する中和抗体活性を認めた16例の症例のうち3例にウイルスリバウンドがみられた。これらのウイルスと治療前のウイルスを比較するために系統樹解析をおこなうと、図4に示すようにそれぞれの症例でリバウンドウイルスは治療前のウイルスとはっきり区別できるクラスターを形成し、HIV-RNAが血漿1mlあたり50コピー未満に抑えられていてもウイルスの進化が進んでいることが考えられた。また、それぞれのウイルスのエンベロープをクローニングし、リコンビナントウイルスを作製して調べるとリバウンドウイルスは一樣に治療前のウイルスに比較して中和抵抗性であった²¹⁾。これらの観察はHAARTにて治療中にリバウンドしてくるウイルスが、中和抗体による選択を受けたことを示すとともに、長期非進行症例で見られるような高力価で広範囲のウイルスに交叉反応できる中和抗体の存在下ではリバウンドを阻止することが可能ではないかと考えられた。

多くのウイルス感染症においてウイルス粒子による感染の阻止には中和抗体が中心的な役割を果たすが、一旦感染が成立した後は細胞性免疫が重要であると考えられてきた。最近、病気の進行の早さやウイルス量のセットポイントの高さにはHIV特異的CD4陽性ヘルパーT細胞活性の減少が関連すると報告され²²⁾、HIVに対する細胞性免疫の活性化を目指した研究が展開していくと考えられる。しかし、一方では、高力価で広範囲のウイルスに交叉反応できる中和抗体の誘導法の開発や単クローン抗体の臨床応用も今後重要になってくると考えられる。

おわりに

我が国でも現在15種類の抗HIV剤が使用可能となった。これらの薬剤の組合せにより、HIV-RNAが測定感度以下に維持され、多くの症例で免疫不全の進行が阻止されている。しかし、薬剤の長期毒性の問題や、薬物相互作用の問題、さらに耐性の出現などで有効な薬剤がかなり限定されてきた患者が増加してきているのも現実である。このような中では交叉耐性のない新薬の開発も重要だが、根本的な治療をめざした免疫療法の開発の必要性はますます大きくなってきている。

文 献

- Gottlieb, M. S. : AIDS-Past and Future. N. Engl. J. Med., **344** : 1788-1799, 2001.
- Gottlieb, M. S., Schroff, R., Schanker, H. M. et al. : Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men : evidence of a new acquired cellular immuno-deficiency. N. Engl. J. Med., **305** : 1425-1431, 1981.
- Matsushita, S. : Current status and future issues in the treatment of HIV-1 infection. Int. J. Hematol., **72** : 20-27, 2000.
- Koup, R. A. and Ho, D. D. : Shutting down HIV. Nature, **370** : 416, 1994.
- Wilson, J. D., Ogg, G. S., Allen, R. L. et al. : Direct visualization of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes during primary infection. AIDS, **14** : 225-233, 2000.
- Rosenberg, E. S., Altfeld, M., Poon S. H. et al. : Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. Nature, **407** : 523-526, 2000.
- Schmitz, J. E., Kuroda, M. J., Santra, S. et al. : Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8⁺ lymphocytes. Science, **283** : 857-860, 1999.
- Pantaleo, G., Demarest, J. F., Soudeyans, H. et al. : Major expansion of CD8⁺T cells with a predominant Vβ usage during the primary immune response to HIV. Nature, **370** : 463-467, 1994.
- Pantaleo, G., Demarest, J. F., Schacker, T. et al. : The qualitative nature of the primary immune response to HIV infection is a prognosticator of disease progression independent of the initial level of plasma viremia. Proc. Natl. Acad. Sci. (U S A), **94** : 254-258, 1997.
- Montefiori, D. C., Hill, T. S., Vo, H. T. et al. : Neutralizing antibodies associated with viremia control in a subset of individuals after treatment of acute human immunodeficiency virus type 1 infection. J. Virol., **75** : 10200-10207, 2001.
- Ogg, G. S., Jin, X., Bonhoeffer, S., Dunbar, P. R. et al. : Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. Science, **279** : 2103-2106, 1998.
- Hazenbergh, M. D., Otto, S. A., Cohen-Stuart, J. W. et al. : Increased cell division but not thymic dysfunction rapidly affects the T-cell receptor excision circle content of the naive T cell population in HIV-1 infection. Nat. Med., **6** : 1036-1042, 2000.
- Ogg, G. S., Jin, X., Bonhoeffer, S. et al. : Decay kinetics of human immunodeficiency virus-specific effector cytotoxic T lymphocytes after combination antiretroviral therapy. J. Virol., **73** : 797-800, 1999.
- Kalams, S. A., Johnson, R. P., Dynan, M. J. et al. : T cell receptor usage and fine specificity of human immunodeficiency virus 1-specific cytotoxic T lymphocyte clones : analysis of quasispecies recognition reveals a dominant response directed against a minor *in vivo* variant. J. Exp. Med., **183** : 1669-1679, 1996.
- Moss, P. A., Rowland-Jones, S. L., Frodsham, P. M. et al. : Persistent high frequency of human immunodeficiency virus-specific cytotoxic T cells in peripheral blood of infected donors. Proc. Natl. Acad. Sci. (U S A), **92** : 5773-5777, 1995.
- Champagne, P., Ogg, G. S., King, A. S. et al. : Skewed maturation of memory HIV-specific CD8 T lymphocytes. Nature, **410** : 106-111, 2001.
- Geijtenbeek, T. B., Kwon, D. S., Torensma, R. et al. :

- DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell*, **100** : 587-597, 2000.
- 18) Zajac, A. J., Blattman, J. N., Murali-Krishna, K. et al. : Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function. *J. Exp. Med.*, **188** : 2205-2213, 1998.
- 19) Evans, D. T., O'Connor, D. H., Jing, P. et al. : Virus-specific cytotoxic T-lymphocyte responses select for amino-acid variation in simian immunodeficiency virus Env and Nef. *Nat. Med.* **5** : 1270-1276, 1999.
- 20) Kimura, T., Yoshimura, K, Nishihara, K. et al. : Reconstitution of spontaneous neutralizing antibody response against autologous HIV-1 in chronically infected patients during highly active antiretroviral therapy. *J. Infect. Dis.*, **185** : 53-60, 2002.
- 21) Wang, FX, Kimura, T., Nishihara, K. et al. : Emergence of autologous neutralization-resistant variants from pre existing quasi species during viral-rebound of human immunodeficiency virus type-1 infected patients under treatment of highly active anti retroviral therapy (HAART). *J. Infect. Dis.*, **185** : 608-617, 2002.
- 22) Rosenberg, E. S., Billingsley, J. M., Caliendo, A. M. et al. : Vigorous HIV-1-specific CD4⁺ T cell responses associated with control of viremia. *Science*, **278** : 1447-1450, 1997.