

2. HIV/SIV 感染における Follicular helper CD4 T 細胞の役割

山本 拓也

Immunology Laboratory
Vaccine Research Center, NIAID, NIH

ウイルス感染防御において、抗体は主要な役割を果たす。しかしながら HIV 感染者では様々な B 細胞性免疫異常が報告されている⁸⁾。CD4T 細胞による B 細胞へのヘルプは B 細胞免疫において非常に重要な役割をなしていることは明らかであるが、HIV 感染では CD4T 細胞の枯渇、機能異常が生じるため、これら CD4T 細胞による B 細胞へのヘルプが正常でないことは容易に想像される。

Follicular helper CD4 T 細胞 (T_{FH} 細胞) は第 2 リンパ組織に局在する CD4T 細胞集団であり、B 細胞の胚中心 (Germinal Center; GC) 形成、体細胞超変異 (somatic hypermutation; SHM)、メモリー B 細胞産生、維持に中心的な役割をなしていると考えられており、近年ウイルス感染においてそれら細胞の役割に関して注目が集まっている^{9, 1)}。そこで本稿では、我々のグループで得られた最新の知見を中心に、T_{FH} 細胞と HIV/SIV 感染の関連、それに基づくワクチン開発の可能性について紹介する。

1. はじめに

タイで行われた第 3 相エイズワクチン臨床試験である RV144 study の結果により、我々は予防ワクチン開発に向けてある一定の知見を得る事が出来た。即ち、U.S. Military HIV Research Program (MHRP), Duke 大学、そして我々 Vaccine Research Center (VRC) のグループを含む NIH を中心とした Follow up study により、ワクチンが誘導する免疫反応として主に HIV エンベロープ蛋白質 (Env) V1V2 領域を認識する血清中 IgG 抗体価が HIV 感染リスクと逆の相関、つまり感染防御と正の相関があることがわかったのである⁵⁾。V1V2 領域を認識する非常に強力な中和活性を有する抗体、例えば Scripps 研究所の Dennis Burton のグループが報告した PG9/PG16 抗体は、B 細胞受容体シ-

クエンス上で非常に多くの SHM が観測されていることが特徴的である¹⁴⁾。つまり、このような特徴を持つ中和抗体、ひいては Env 抗原特異的メモリー B 細胞をいかにして誘導出来るかが、今後のワクチン開発において重要なポイントの 1 つであると考えられる。SHM が行われる場である GC は、T 細胞依存性に活性化された B 細胞を中心として形成されるため、それら免疫反応に T 細胞、特に CD4T 細胞 (この GC に局在する CD4T 細胞は主として T_{FH} 細胞である) によるヘルプは必要不可欠であると考えられる。そこで本総説ではこれら T 細胞を介する B 細胞性免疫に焦点を絞り、特に近年注目されている T_{FH} 細胞による免疫反応を中心として解説し、今後のエイズワクチン開発に関して考察する。

2. T_{FH} 細胞と胚中心 B 細胞の関わり

T_{FH} 細胞は細胞表面上に CXCR5 を発現することで、ケモカインである CXCL13 を認識し、リンパ組織中の T 細胞領域ならびに GC 領域に局在出来る。B 細胞、T_{FH} 細胞はそれぞれ様々な細胞表面マーカーを発現しており、両者の相互作用なくして GC を形成する事は出来ない。また、T_{FH} 細胞は IL21 や IL4 を産生する能力を有し、B 細胞免疫にとってヘルパー T 細胞として、SHM やメモリー B 細胞、plasma 細胞の産生、維持に関わっている^{1, 10)}。

我々のデータを基に、主なヒト T_{FH} 細胞、サル T_{FH} 細胞を識別するための細胞表面マーカー等を表 1 にまとめ

連絡先

Immunology Laboratory
Vaccine Research Center, NIAID, NIH
40 Convent Drive, MSC 3022
Building 40, Room 3612
Bethesda, MD 20892
TEL: 301-594-8616
FAX: 301-480-2779
E-mail: yamamotot2@niaid.nih.gov

表1 T_{FH}細胞マーカー

	Human T _{FH}	Monkey T _{FH}
PD-1	HIGH	HIGH
ICOS	HIGH	HIGH
CD57	HIGH	×
CCR7	Low	LOW
CXCR5	HIGH	?
CXCR4	HIGH	HIGH
BTLA	HIGH	HIGH
CD69	HIGH	HIGH
IL-6Ra	HIGH	HIGH
SLAM(CD150)	DIM/LOW	DIM/LOW
PD-L1	DIM/LOW	DIM/LOW
CD127	LOW	LOW

た。我々はまず慢性 SIV 持続感染期において、リンパ節中の T_{FH} 細胞の割合を調べた。その結果、慢性 SIV 感染期において顕著な T_{FH} 細胞の蓄積が見られた (図 1)。次に T_{FH} 細胞の割合と GC B 細胞の関係を調べた。その結果、両者の間には正の相関がある事を見いだした¹¹⁾。さらに、同じ慢性 SIV 持続感染期でも T_{FH} 細胞蓄積の割合の高いサル群では、低いサル群と比較して血清中の SIV 特異的 IgG 抗体価が高いことが分かった。

他方、Hendrik Streeck のグループはヒトリンパ節を用いた実験を行った。その結果、HAART 治療中の患者群、ならびに HIV 非感染者群と比較して、未治療慢性 HIV 持続感染者群では、有意な T_{FH} 細胞の蓄積が観察された⁶⁾。また、これら慢性 HIV 持続感染期において、T_{FH} 細胞中の Bcl6 発現量と血清中の IgG 抗体価や B 細胞中のメモリー B 細胞の割合が正に相関することを報告している。つまり、慢性 HIV/SIV 持続感染下においてリンパ節中で T_{FH} 細胞は蓄積し、それに伴って IgG 抗体産生量や全体的な GC B 細胞、メモリー B 細胞の増加が起こっているのである。我々のグループではこれらの現象が脾臓中でも同様に観察される事を確認している。

しかしながら、例えば HIV 非感染者群と HIV 感染者群とで T_{FH} 細胞の IL4 や IL21 などのサイトカイン産生能に違いが見られるのか、あるいは、末梢血中の HIV 特異的

CD8T 細胞で見られる様な機能的疲弊が HIV 感染者の T_{FH} 細胞で見られるのか、等に関しては明確な結論は出ておらず、今後も解析が必要である。

3. HIV/SIV 感染下でのリンパ組織における T_{FH} 細胞の蓄積

急性 HIV/SIV 感染期においてリンパ組織中でウイルスが非常に活発に増殖している事はこれまでに報告されている⁷⁾。リンパ組織中で GC 形成に関わる主要な細胞集団として B 細胞、T_{FH} 細胞の他に Follicular dendritic cells (FDCs) が挙げられるが、FDC 中で HIV 感染、複製が行われるかという事に関しては、依然として議論がなされているところである¹³⁾。一般的にはリンパ組織中の HIV 感染、増殖の主なターゲットは CD4T 細胞であると考えられ、これには T_{FH} 細胞も含まれる。また、末梢血中においては HIV 特異的 CD4T 細胞が、他の抗原特異的な CD4T 細胞と比較して、より HIV 感染性が高い事が報告されている²⁾。従って、リンパ節中で HIV 感染により誘導される T_{FH} 細胞において HIV 感染が活発に起こっている可能性は十分に考えられる。

この点に関して、我々の結果では、SIV 感染モデルの急性期に T_{FH} 細胞は他のメモリー T 細胞と比較して SIV 感染頻度がわずかながら高かった。しかしながら、慢性期に

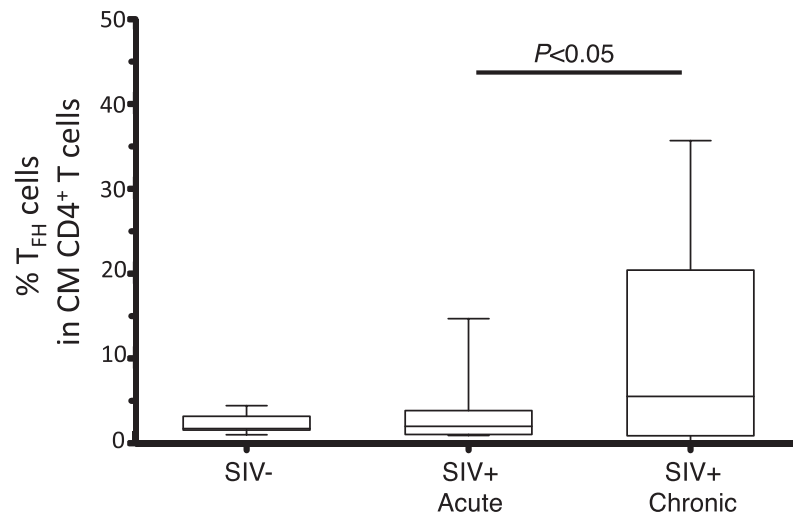


図1 リンパ節中 T_{FH} 細胞の割合

SIV 未感染, 急性 SIV 感染期, 慢性 SIV 感染期における CM CD4 T 細胞中の T_{FH} 細胞の割合

なるとその差は見られなくなった。従って、リンパ節中のメモリー T 細胞のうちの特定の細胞集団で多く HIV 感染が起きているというよりは、全体的にメモリー T 細胞で高い感染性が維持されていると思われる。あるいは、もう一つの可能性として、T_{FH} 細胞、特に GC T_{FH} 細胞はアポトーシス感受性が非常に高く BrdU 取り込み能が低い、という我々の *in vitro* 実験より得られた結果から、T_{FH} 細胞はウイルスに感染しても死滅してしまうため、長期にウイルスを維持、増殖できないことも考えられる。実際、慢性 SIV 感染期において血中ウイルス量と T_{FH} 細胞との割合に相関は見られなかった (図 2)。

LCMV の慢性感染マウスモデルにおいて、ウイルス持続感染が続くと T_{FH} 細胞が蓄積してくる事は我々の研究より以前に報告されていた³⁾。ただしここでの疑問は、HIV が CD4T 細胞に感染し、全体的な CD4T 細胞数が減少するにもかかわらず、また、GC T_{FH} 細胞自体はアポトーシス感受性や HIV 感染感受性が高く、細胞死に至りやすい状態であるにもかかわらず、なぜ慢性 HIV/SIV 感染時にリンパ節中の T_{FH} 細胞の蓄積が見られるのか、という点である。

そこで、我々は T_{FH} 細胞が多くの活性化マーカーを発現している事に着目し、サル個体における免疫活性化状態、炎症状態をそれぞれ sCD14 と IL6 産生を指標として解析した。

sCD14 に関してはこれまでに HIV 感染者において自然免疫を介した免疫活性化に関与している事が Daniel Douek のグループにより報告されている¹²⁾。そこで慢性 SIV 感染期において T_{FH} 細胞の蓄積が見られたサル群と見られなかったサル群で血清中の sCD14 値を比較したところ、蓄積が見られたサル群で優位に高い事が分かった (図 3)。

IL6 に関しては、LCMV 感染マウスモデルを用いた解析で、慢性持続感染下における T_{FH} 細胞の蓄積に大きく関わっている事が既に報告されている⁴⁾。そこで SIV 感染前と慢性感染期で血清中 IL6 値を比較したところ、予想通り慢性感染期において血中 IL6 値が優位に高かった。更に、T_{FH} 細胞上での IL6 受容体の発現を見てみると、IL6 受容体の発現が高いほどリンパ節中の T_{FH} 細胞の割合が多くなっている事が分かった。つまり、SIV 慢性持続感染期において見られる T_{FH} 細胞の蓄積は、直接的なウイルス感染とは無関係に SIV 慢性持続感染による恒常的な免疫活性化、ならびに IL6 を中心とする炎症反応により誘導されるものであると考えられた。

4. ワクチン開発における T_{FH} 細胞の重要性

ワクチン開発を考える上で重要となる HIV 特異的メモリー T_{FH} 細胞の有無、またその重要性などはまだ報告がない。また、もし HIV 特異的メモリー T_{FH} 細胞が存在するとなれば、どのような抗原を認識する抗原特異的 T_{FH} 細胞がその後の Env 特異的メモリー B 細胞の産生、維持、および中和抗体誘導に関わっているのかは、今後の議論の中心となるであろう。Streeck のグループの報告では、慢性 HIV 持続感染者の Gag 抗原特異的 T_{FH} 細胞と Env 抗原特異的 T_{FH} 細胞の割合が異なることが示されているが、実際どの程度両者が中和抗体産生に寄与しているかは明らかにされていない。

それに関連して、Env 特異的 T_{FH} 細胞を単独で誘導する場合と Env 特異的 T_{FH} 細胞に合わせて他の抗原特異的 T_{FH} 細胞を誘導する場合の中和抗体産生の違い等を比較する研究も今後行われていくと思われる。また VRC の Robert Seder を中心とするグループでは、Env 蛋白質を

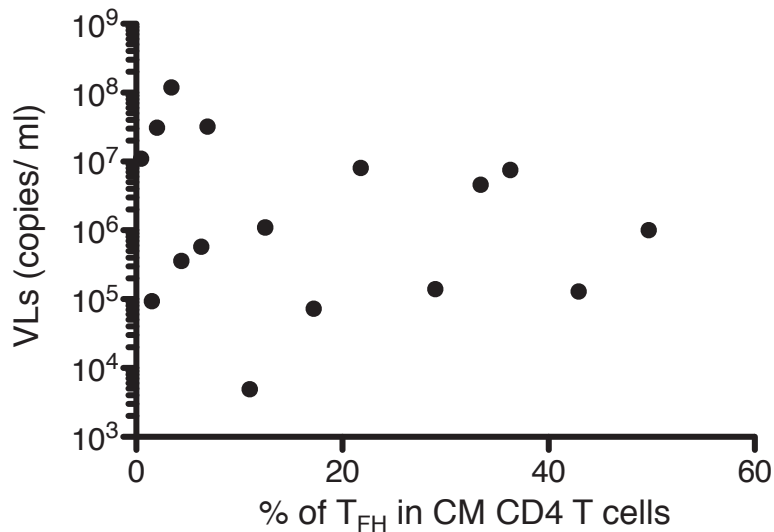


図2 血中ウイルス量とリンパ節中 T_{FH} 細胞の割合

慢性 SIV 感染期における血中ウイルス量と CM CD4 T 細胞中の T_{FH} 細胞の割合との相関図

ワクチン抗原として用いる際のアジュバントの違いにより誘導されてくる T_{FH} 細胞と、それに伴う中和抗体誘導の違いに関する研究を行っており、今後の結果に注目したいところである。いずれにせよ、予防ワクチン開発において中和活性の高い中和抗体を誘導するために抗原特異的 T_{FH} 細胞細胞は不可欠であると考えられ、今後はワクチンにより誘導される抗原特異的な T_{FH} 細胞の量的、質的両方の側面からの解析が重要であろう。

おわりに

ワクチンによる抗 HIV 抗体産生において、抗原選択の重要性同様、T_{FH} 細胞研究は重要であると筆者は考えている。先にも述べた様に、様々なマウスウイルス感染モデル同様、HIV 感染においても GC での T_{FH} 細胞の割合と抗体産生細胞の割合に正の相関が見られる事が報告された^{6, 11)}。ただし、エイズワクチン開発を考えた時に、単純に T_{FH} 細胞の割合を増やして抗体産生の亢進を誘導する事が必ずしも良いとは限らない。結果的にこれらの誘導が行き過ぎてしまうと、ただでさえ過剰な炎症反応等が起きている HIV 感染者に、より過剰な自己免疫疾患等を引き起こす可能性がある事は十分に想定されるからである。また、リンパ節中で HIV の標的細胞が T_{FH} 細胞だけではないものの、急性、慢性感染期において高い感染感受性を有している事は事実であり、これら T_{FH} 細胞を増やす事が結果的に HIV の標的細胞を増やす事につながりかねない事は常に念頭においておかなければならないだろう。つまり、ワクチンで単純に T_{FH} 細胞を増やせば効果的な抗体産生に結びつくかということ、そうではないという事を強調したい。適切な抗原選択と、それによる効率的な抗原特異的 T_{FH}

細胞の誘導が、結果的には強力な中和抗体の誘導へと結びつくこと筆者は考えている。

謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究は NIH VRC の Dr. Richard A. Koup ラボで主に行われたものであり、VRC の Dr. Robert Seder, Dr. Mario Roederer, Dr. Daniel Douek, NIAID の Dr. Ronald Germain, VGTI の Dr. Elias Haddad をはじめ多くの共同研究者の方々の協力を頂きました。改めてここに深謝いたします。

また本稿執筆にあたり国立感染症研究所免疫部横田恭子室長に校正頂きました。心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Crotty, S. 2010. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol* 29:621-663.
- 2) Douek, D. C., J. M. Brenchley, M. R. Betts, D. R. Ambrozak, B. J. Hill, Y. Okamoto, J. P. Casazza, J. Kuruppu, K. Kunstman, S. Wolinsky, Z. Grossman, M. Dybul, A. Oxenius, D. A. Price, M. Connors, and R. A. Koup. 2002. HIV preferentially infects HIV-specific CD4+ T cells. *Nature* 417:95-98.
- 3) Fahey, L. M., E. B. Wilson, H. Elsaesser, C. D. Fistonich, D. B. McGavern, and D. G. Brooks. Viral persistence redirects CD4 T cell differentiation toward T follicular helper cells. *J Exp Med* 208:987-999.
- 4) Harker, J. A., G. M. Lewis, L. Mack, and E. I. Zuniga. 2011. Late interleukin-6 escalates T follicular helper cell responses and controls a chronic viral infection. *Science* 334:825-829.
- 5) Haynes, B. F., P. B. Gilbert, M. J. McElrath, S. Zolla-Pazner, G. D. Tomaras, S. M. Alam, D. T. Evans, D. C.

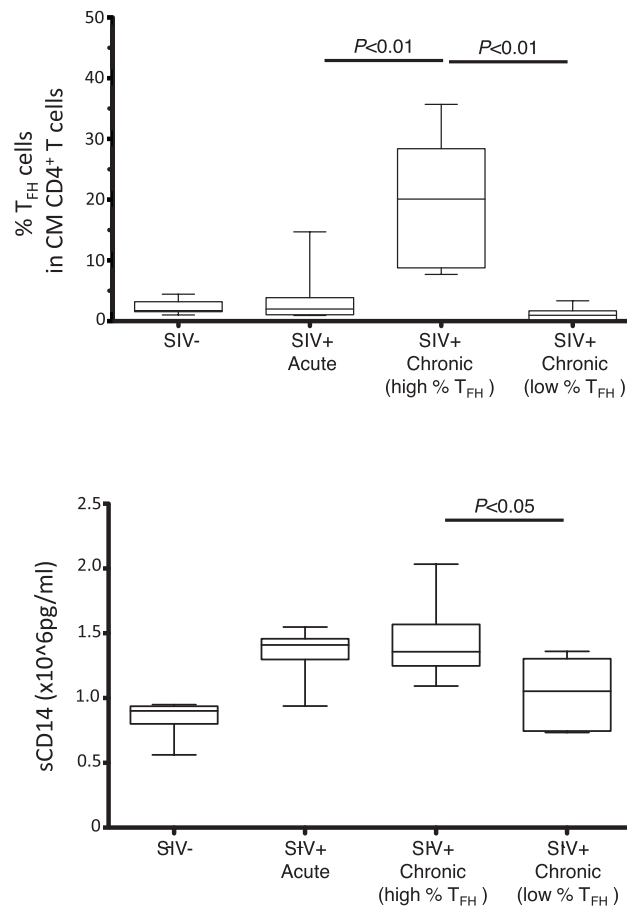


図3 血清中 sCD14 量とリンパ節中 T_{FH} 細胞の関係

SIV 未感染, 急性 SIV 感染期, 慢性 SIV 感染期 (慢性感染期において T_{FH} 細胞の蓄積が見られる群と見られない群) における CM CD4 T 細胞中の T_{FH} 細胞の割合 (上段) と血中 sCD14 量 (下段)

- Montefiori, C. Karnasuta, R. Sutthent, H. X. Liao, A. L. DeVico, G. K. Lewis, C. Williams, A. Pinter, Y. Fong, H. Janes, A. DeCamp, Y. Huang, M. Rao, E. Billings, N. Karasavvas, M. L. Robb, V. Ngaay, M. S. de Souza, R. Paris, G. Ferrari, R. T. Bailer, K. A. Soderberg, C. Andrews, P. W. Berman, N. Frahm, S. C. De Rosa, M. D. Alpert, N. L. Yates, X. Shen, R. A. Koup, P. Pitisuttithum, J. Kaewkungwal, S. Nitayaphan, S. Rerks-Ngarm, N. L. Michael, and J. H. Kim. 2012. Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial. *The New England journal of medicine* 366:1275-1286.
- 6) Lindqvist, M., J. van Lunzen, D. Z. Soghoian, B. D. Kuhl, S. Ranasinghe, G. Kranias, M. D. Flanders, S. Cutler, N. Yudanin, M. I. Muller, I. Davis, D. Farber, P. Hartjen, F. Haag, G. Alter, J. Schulze Zur Wiesch, and H. Streeck. 2012. Expansion of HIV-specific T follicular helper cells in chronic HIV infection. *The Journal of clinical investigation* 122:3271-3280.
 - 7) Mattapallil, J. J., D. C. Douek, B. Hill, Y. Nishimura, M. Martin, and M. Roederer. 2005. Massive infection and loss of memory CD4⁺ T cells in multiple tissues during acute SIV infection. *Nature* 434:1093-1097.
 - 8) Moir, S., and A. S. Fauci. 2009. B cells in HIV infection and disease. *Nature reviews. Immunology* 9:235-245.
 - 9) Nurieva, R. I., Y. Chung, G. J. Martinez, X. O. Yang, S. Tanaka, T. D. Matskevitch, Y. H. Wang, and C. Dong. 2009. Bcl6 mediates the development of T follicular helper cells. *Science* 325:1001-1005.
 - 10) Nutt, S. L., and D. M. Tarlinton. 2011. Germinal center B and follicular helper T cells: siblings, cousins or just good friends? *Nature immunology* 12:472-477.
 - 11) Petrovas, C., T. Yamamoto, M. Y. Gerner, K. L. Boswell, K. Wloka, E. C. Smith, D. R. Ambrozak, N. G. Sandler, K. J. Timmer, X. Sun, L. Pan, A. Poholek, S. S. Rao, J. M. Brenchley, S. M. Alam, G. D. Tomaras, M. Roederer, D. C. Douek, R. A. Seder, R. N. Germain, E. K. Haddad, and R. A. Koup. 2012. CD4 T follicular helper cell dynamics during SIV infection. *The Journal of clinical investigation* 122:3281-3294.
 - 12) Sandler, N. G., H. Wand, A. Roque, M. Law, M. C. Nason, D. E. Nixon, C. Pedersen, K. Ruxrungtham, S. R. Lewin, S. Emery, J. D. Neaton, J. M. Brenchley, S. G. Deeks, I. Sereti, and D. C. Douek. 2011. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in

- HIV infection. *The Journal of infectious diseases* 203:780-790.
- 13) Vinuesa, C. G. 2012. HIV and T follicular helper cells: a dangerous relationship. *The Journal of clinical investigation* 122:3059-3062.
- 14) Walker, L. M., S. K. Phogat, P. Y. Chan-Hui, D. Wagner, P. Phung, J. L. Goss, T. Wrin, M. D. Simek, S. Fling, J. L. Mitcham, J. K. Lehrman, F. H. Priddy, O. A. Olsen, S. M. Frey, P. W. Hammond, S. Kaminsky, T. Zamb, M. Moyle, W. C. Koff, P. Poignard, and D. R. Burton. 2009. Broad and potent neutralizing antibodies from an African donor reveal a new HIV-1 vaccine target. *Science* 326:285-289.

The role of Follicular helper CD4 T cells in HIV/SIV infection

Takuya YAMAMOTO

Immunology Laboratory/ Vaccine Research Center/ NIAID/ NIH

Follicular CD4 T helper (T_{FH}) cells promote the survival, isotype switching and generation of high affinity memory B cells and plasma cells. There are numerous reports regarding the dysfunction of B cell mediated immune responses, the lack of memory CD4 T cells and the dysfunction of HIV specific CD4 T cells in SIV/HIV infection. During chronic SIV/HIV infection, T_{FH} cell accumulation may drive B cell dysfunction and become a major HIV reservoir. In this review, we discuss the relationship between T_{FH} cells and B cells in SIV/HIV infection.