

近年の抗ヒト免疫不全ウイルス（HIV）薬、特にインテグラーゼ阻害薬の発展により、HIV 感染者の循環血中においてウイルスを制御することが可能となった。しかし、抗ウイルス療法（ART）の中断後には多くの場合で HIV（特に CCR5 陽性 CD4 陽性 T 細胞に感染する R5 型 HIV）の再燃が認められる。これまでの研究で松村らは、ART 中の HIV 感染者において、血中からはウイルスが検出されない場合でも回腸に存在する CD4 陽性ナチュラルキラー T（NKT）細胞からはウイルスが検出されることを報告し、この細胞が ART 中の HIV 感染者におけるウイルス reservoir となっている可能性を指摘した。また、近江らはヒト末梢血単核細胞（PBMC）由来の CD4 陽性 NKT 細胞に R5 型 HIV 株である NL(AD8)を感染させる実験モデルにおいて、V $\delta$ 1 TCR 陽性  $\gamma\delta$  型 T 細胞（V $\delta$ 1 細胞）が MIP-1 $\alpha$  や MIP- $\beta$  および RANTES といったケモカインの分泌を介して NKT 細胞内での HIV 複製を抑制することを見出した。しかし、近江らの用いた V $\delta$ 1 細胞は新鮮 PBMC から単離されたものであり、その過程において V $\delta$ 1 細胞が一部活性化されていたことから HIV 複製抑制効果が不均一であった。そこで、本研究では V $\delta$ 1 細胞を単離後一定期間培養することで resting 状態を誘導し、より安定した V $\delta$ 1 細胞による HIV 複製抑制効果を観察することとした。

ヒト  $\gamma\delta$ T 細胞は V $\delta$ 1 型 T 細胞と V $\delta$ 2 型 T 細胞の 2 種類のサブセットに大別される。これまで V $\delta$ 2 型 T 細胞の認識抗原としては、Isopentenyl pyrophosphate (IPP)などの アルキルピロリン酸系抗原やリセドロン酸のようなアミノビスホスホネート製剤、アルキルアミン類などの物質が知られていたが、V $\delta$ 1 細胞の認識抗原についてはほとんど知られていなかった。そこで、V $\delta$ 1 細胞が腸管に多く存在することをふまえて、日常的に摂取される食物中に含有される成分、特に、抗酸化効果、抗炎症効果、抗凝固効果、抗動脈硬化効果など、ヒトにとって有益な効果が多く知られているフラボノイド類の中に V $\delta$ 1 細胞の認識抗原を見出すことが本研究の目的であった。

本研究では、まず、V $\delta$ 1 細胞に対して特異的な抗原のスクリーニングを行うために TCR を欠損した Jurkat T 細胞に PBMC 由来の V $\delta$ 1 TCR または V $\delta$ 2 TCR を導入発現させた 2 種類のトランスフェクタント細胞株（1C116 と 2C21）を樹立した。これらの細胞株は移入した TCR に対する抗原の存在下で IL-2 を分泌する特徴を有していたため、培養上清中の IL-2 を定量することで刺激抗原のスクリーニングが可能であった。スクリーニングの結果、2 種類のフラボノイド配糖体（ヘスペリジンおよびリナリン）が V $\delta$ 1 TCR を強く刺激・活性化することが判明した。次に、これらのフラボノイド配糖体が実際にヒト V $\delta$ 1 細胞を刺激・活性化することができるか否かを調べるため、PBMC に対しフラボノイド配糖体を加え観察した。その結果、ヘスペリジンおよびリナリンは PBMC 中の V $\delta$ 1 細胞を特異的に増殖させ、活性化することが判明した。さらに、PBMC から誘導し resting 状態にした V $\delta$ 1 細胞に、

フラボノイド配糖体を添加・刺激した際のサイトカイン、ケモカイン分泌動態を追跡した。その結果、resting 状態の V $\delta$ 1 細胞をヘスペリジンおよびリナリンで刺激すると、IL-5、IL-13 といった Th2 型のサイトカインの分泌とともに、MIP-1 $\alpha$ 、MIP- $\beta$ 、RANTES といったケモカインの分泌が認められ、フラボノイド配糖体は V $\delta$ 1 細胞を resting 状態から活性化させることが示された。以上の結果をふまえ、R5 型 HIV-1 である NL(AD8)株が感染した CD4 陽性 NKT 細胞内における HIV 複製に対する V $\delta$ 1 細胞の影響を調べた。ヘスペリジンまたはリナリンを単独で用いた場合ならびに resting 状態の V $\delta$ 1 細胞のみを用いた場合では、NKT 細胞内の HIV 複製を抑制することはできなかったが、ヘスペリジンおよびリナリンで活性化させた V $\delta$ 1 細胞は NKT 細胞内の HIV 複製を著明に抑制した。

以上、本研究ではヘスペリジンやリナリンといった漢方薬中にも含有されるフラボノイド配糖体がヒトの V $\delta$ 1 細胞をその V $\delta$ 1 TCR を介して選択的に活性化させることを世界で初めて示したものであり、CD4 陽性 NKT 細胞において感染した HIV-1 の複製が resting 状態の V $\delta$ 1 細胞によっては抑制されず、フラボノイド配糖体によって活性化した V $\delta$ 1 細胞によって抑制されることを示したものである。