

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 22 日現在

機関番号：17401
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2012～2012
 課題番号：24659483
 研究課題名（和文）ヒト化 SCID マウス/可視化 HIV を用いた感染早期 HIV 播種動態と治療効果の解析
 研究課題名（英文）Altered dynamics of HIV_{mCherry} dissemination in huPBMC-transplanted NOJ mice under anti-HIV drug administration
 研究代表者
 鎌田 伸好（KUWATA NOBUYO）
 熊本大学・エイズ学研究センター・特任助教
 研究者番号：60361218

研究成果の概要（和文）：本萌芽研究では、早期（暴露後 24 hr 前後）の抗 HIV 薬剤投与によってもたらされる効果を検討することを目的とし、ヒト PBMC 移植 NOD/Scid/Jak3^{-/-}マウスに蛍光発光 HIV_{mCherry} を感染させた AIDS モデルマウスに抗 HIV 薬の一つである raltegravir (RAL) の投与を行い、薬剤効果の評価を行った。投与により、*in vivo* imaging による mCherry シグナルは検出困難となり、リンパ節の腫脹は抑制された。血中 HIV-1p24 抗原量は全例（12 例）で検出限界以下となる一方で、血中 HIV RNA コピーは検出される個体が 12 例中 2 例あった。これら 2 例の個体では hCD83 陽性（単球-Mφ/DC 系）の細胞に感染が成立していることも示された。以上の知見から、RAL 投与開始までの期間、HIV（接種後 24 時間以内）に感染が確立した細胞は RAL 投与下においても持続的にウイルスを産生する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated potential changes in the early-phase (within 24 hours after exposure) dynamics of HIV-1 dissemination in huPBMC-transplanted NOD/Scid/Jak3^{-/-} mice receiving raltegravir (RAL) using recombinant HIV-1 containing mCherry (HIV_{mCherry}). When HIV_{mCherry} was *ip*-inoculated to the mice and RAL was administered (40 mg/kg/day, *ip*, *bid*), mCherry signals were hardly detected in the peritoneal lymph nodes. While no plasma p24 was detected in any of HIV_{mCherry}-exposed and RAL-receiving (HIV_{mCherry}^{RAL}) mice (n=12), plasma HIV-RNA was readily detected in two HIV_{mCherry}^{RAL} mice. The existence of mCherry⁺, HIV-1p24⁺ cells in the two mice was revealed by immunohistochemistry and such cells were positive for hCD83. The data suggest that once HIV infection is established, the infected cells (mostly monocyte-Mφ/DC lineage cells) persist in the primary infection sites and produce virions despite RAL treatment.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：感染症診断学

1. 研究開始当初の背景

我々はこれ迄 HIV の生体内播種・感染拡大のダイナミクス検討のために、ヒト PBMC 移植 NOD/Scid/Jak3^{-/-} (NOJ) マウスに蛍光発光 HIV_{mCherry} を感染させた AIDS モデルマウスと *in vivo* imaging 法を用いて HIV 初期感染動

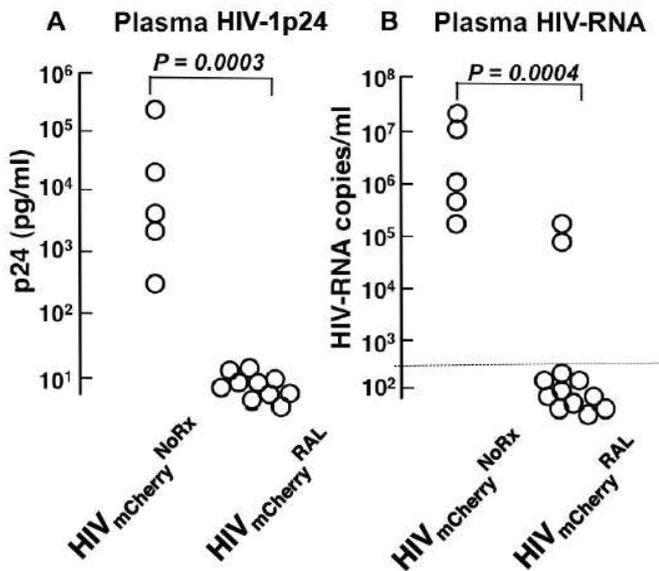
態の解析システム確立の努力を続けてきた。

2. 研究の目的

我々の研究グループが見出した蛍光能/感染能を有する HIV_{mCherry} と蛍光観察可能な AIDS モデルマウスを使用して、ヒトでは実施不可

量投与 13 日目の *in vivo* imaging では mCherry 特異シグナルは減弱し、リンパ節の腫脹が有意に抑えられた。

(Aa-d, 自家蛍光と mCherry 特異シグナル; Ae-h, mCherry 特異シグナルのみ) Aa と e は HIV_{mCherry} 暴露なしのコントロール、Ab と f は HIV_{mCherry} 暴露あり RAL 処置なし、Ac と g は HIV_{mCherry} 暴露あり RAL 処置あり血中 HIV-RNA 陰性、Ad と h は HIV_{mCherry} 暴露あり RAL 処置あり血中 HIV-RNA 陽性。矢印は mCherry 陽性シグナルを示す。(B) *In vivo* imaging の後、腹腔リンパ節を採取し、その湿重量を計測し多重比較検定を行った。RAL 処理群では非処



置群に比べて有意に低い値であった。

図 3 HIV_{mCherry} 暴露 24 時間後からの RAL の大量投与 13 日目のマウス血漿中の HIVp24 は検出限界以下 (A) であったが、一方で血漿中の HIV-RNA は検出可能な個体があった (B)。しかしながらその HIV-RNA 値は RAL 処置群で非処置に比べて有意に小さい値を示した。

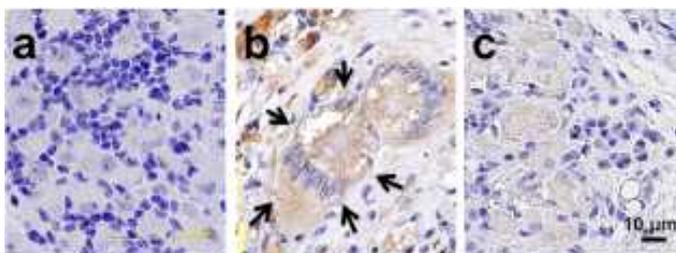
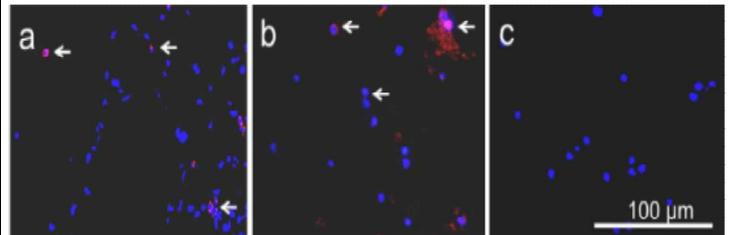


図 4 HIV_{mCherry} 暴露 24 時間後からの RAL の大量投与 13 日目のマウスリンパ節には HIV 感染に伴って出現するとされる多核巨細胞は

コントロールマウス (a) と同様に確認されなかった (c)。一方で非処置マウスのリンパ節内には多核巨細胞が明瞭に確認された (b)。矢印は多核巨細胞を示す。

図 5 HIV_{mCherry} 暴露直前のヒト化マウス腹腔の蛍光免疫染色。HIV_{mCherry} 暴露直前にも腹腔内にはヒト細胞、hCD45 陽性細胞 (a) が存在



し、それらは未熟樹状細胞 (hCD209⁺) (b) であり、成熟樹状細胞 (hCD83⁻) (c) ではないことが確認された。矢印は各陽性細胞を示す。

これらの知見から、RAL 投与開始までの期間、HIV (接種後 24 時間以内) に感染が確立した細胞は RAL 投与下においても持続的にウイルスを産生する可能性が示唆された。以上のことより我々のモデルが治療によって抑制できないウイルス血症が生じる原因を検討するために有効な手段ともなり得ることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 3 件)

① 鍛田伸好, 抗 HIV 剤 raltegravir による HIV 体内播種早期ダイナミクスの変容, 第 26 回日本エイズ学会, 2012 年 11 月 25 日, 慶応義塾大学日吉キャンパス(神奈川県)

② Nobuyo Higashi-Kuwata, Altered dynamics of HIV_{mCherry} dissemination in huPBMC-transplanted NOJ mice under Raltegravir administration, the 13th Kumamoto AIDS Seminar, October 25 2012, Aso Resort Grandvriion Hotel (Kumamoto)

③ 鍛田伸好, 抗 HIV 剤による HIV 体内播種早期ダイナミクスの変容, 白馬シンポジウム, 2012 年 6 月 7 日, 京都市国際交流会館 (京都府)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鍬田 伸好 (KUWATA NOBUYO)
熊本大学・エイズ学研究センター・特任助教
研究者番号：60361218

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

青木 宏美 (AOKI HIROMI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・
大学院生
研究者番号：なし