

機関番号：13501

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791067

研究課題名 (和文) 性行為 HIV 感染における Toll-like receptor の役割

研究課題名 (英文) The role of Toll-like receptor on sexual transmission of HIV

研究代表者

小川 陽一 (OGAWA YOUICHI)

山梨大学・医学部附属病院 ・ 助教

研究者番号：20377542

研究成果の概要 (和文) : 数々の研究において既に HIV 以外の性行為感染症 (STD) が存在することにより、HIV の感染リスクが高まることが報告されてきたが、そのメカニズムは不明であった。ランゲルハンス細胞 (LC) は HIV 感染における最も重要な感染ターゲット細胞と考えられており、我々は STD の microbial components が LC の TLR、あるいは NOD を介して認識され、LC における HIV 感染を増強しているのではないかと考えた。我々は Monocyte-derived LC、あるいは、ヒト表皮 LC において TLR1/2、および TLR2/6 アゴニストが HIV 感染を強く増強することを発見した。TLR アゴニストの代わりに、グラム陽性細菌を用いた場合も同様であった。LC において TLR2 刺激は HIV の複製阻害蛋白である APOBEC3G の発現を有意に低下させ、さらに HIV receptor である CD4 の発現を増強した。これらが LC における HIV 感染増強を引き起こしていると考えられた。以上より、既に STD として存在するグラム陽性細菌の構成要素が LC 上の TLR2 を介して認識されることにより、生体内での HIV 感染および播種の増強が引き起こされていると考えられた。

研究成果の概要 (英文) : Although numerous studies have shown a higher risk of acquiring HIV infection in the presence of other sexually transmitted diseases, the biologic mechanisms responsible for enhanced HIV acquisition are unclear. Because Langerhans cells (LCs) are suspected to be the initial HIV targets after sexual exposure, we studied whether microbial components augment HIV infection in LCs by activating TLR and NOD pattern recognition receptors. We found that TLR1/2 and TLR2/6 agonists dramatically enhanced both HIV susceptibility and replication in immature monocyte-derived LCs. The same infection-enhancing effects were observed when LCs were incubated with other related bacterial components as well as with whole Gram+ bacteria. In resident LCs in human skin, TLR2 agonists also significantly increased HIV susceptibility. We found that TLR2 activation of LCs, resulted in a significant down-regulation of APOBEC3G, which is a cellular restriction factor for HIV. Given these data, we hypothesize that ligation of TLR2 by Gram+ bacterial products may underlie enhanced sexual transmission of HIV that occurs with concomitant bacterial sexually transmitted disease infections.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚感染症

1. 研究開始当初の背景

数々の研究において膾に HIV 以外の性行為感染症 (STD) が存在することにより、HIV の感染リスクが高まることが報告されてきたが、そのメカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

ランゲルハンス細胞 (LC) は HIV 感染における最も重要な感染ターゲット細胞と考えられており、我々は STD の microbial components が LC の Toll-like receptor (TLR)、あるいは nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) を介して認識され、LC における HIV 感染を増強しているのではないかと考えた。

3. 研究の方法

ヒト皮膚 LC、あるいは Monocyte-derived LC を用いる。これらの LC を TLR、あるいは NOD アゴニストで前処理し、その後 HIV に感染させることで、LC の HIV 感染における TLR/NOD 刺激の影響を検討する。

Monocyte-derived LC を各種 TLR ligand, NOD ligand で 24 時間前処理し、洗浄後、R5 HIV である HIV BaL に 2 時間感染させる。よく洗浄後、7 日間 culture し、HIV p24 に対する intracellular staining を行った。LC は Langerin+CD11c+細胞として同定され、この細胞中の p24 陽性細胞数を測定した。

ヒト表皮を用いた実験では、ヒト皮膚から suction blister の手技を用いて水疱を作成し、水疱蓋を切り取ることで表皮シートを採取した。表皮シートに各種 ligand を暴露後、HIV BaL に感染させ、よく洗浄後に培養液状に浮かべた。LC は表皮シートから遊走する。HIV に暴露後 3 日後、遊走した LC のうち HIV に感染した LC を HIV p24 intracellular staining を用いて検討した。

4. 研究成果

(1) Monocyte-derived LC (図 1 上)、あるいは、ヒト表皮 LC (図 1 下) において TLR1/2、および TLR2/6 アゴニストが HIV 感染を強く増強することを発見した。

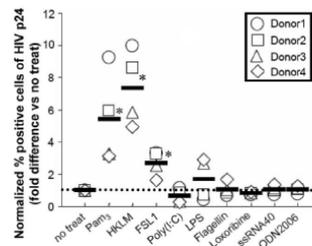
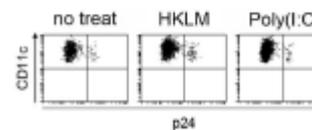
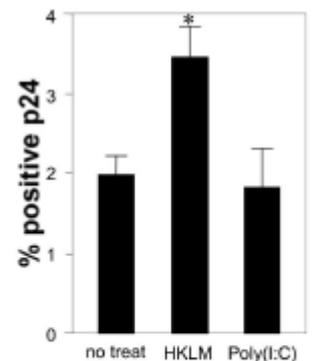


図 1



(2) TLR2 関連 ligand による LC における HIV 感染増強効果は濃度依存性であった (図 2)。

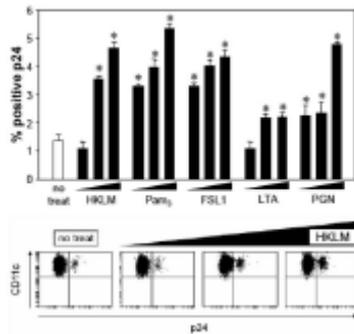


図 2

(3) TLR2 ligand は主にグラム陽性菌に多く含まれるため、TLR アゴニストの代わりに、グラム陽性細菌を用いた場合も同様であった。(図 2)。

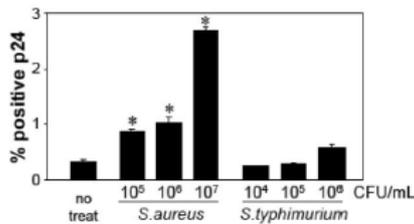


図 3

(4) Monocyte-derived DC では、LC とは対照的に、TLR2 関連アゴニストが HIV 感染率を有意に減少させた (図 4)。

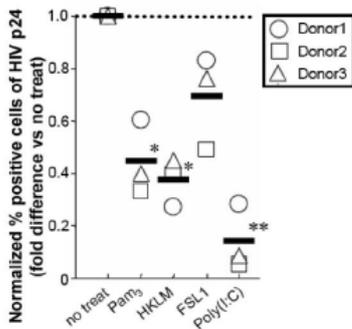
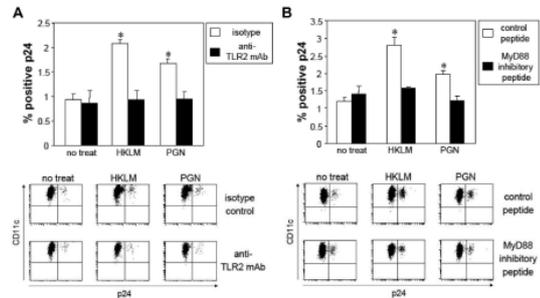


図 4

(5) TLR2 ligand による LC における HIV 感染増強効果は、anti-TLR2 mAb、および MyD88 inhibitory peptide によってキャンセルされた。このことより、この効果は TLR2 および MyD88 依存性であることが証明された (図 5)。



(6) LC において TLR2 刺激は HIV の複製阻害蛋白である APOBEC3G の発現を有意に低下させ、このことが LC における HIV 感染増強を引き起こしていると考えられた。対照的に、DC において TLR2 刺激は APOBEC3G の発現を有意に増加させていた (図 6)。

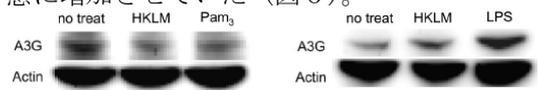


図 6 ; 左 LC, 右 DC

(7) また、TLR2 刺激は LC において HIV receptor である CD4 の発現を増強し、対照的に DC において HIV co-receptor である CCR5、また C-type lectin receptor である DC-sign の発現を低下させていた (図 7)。

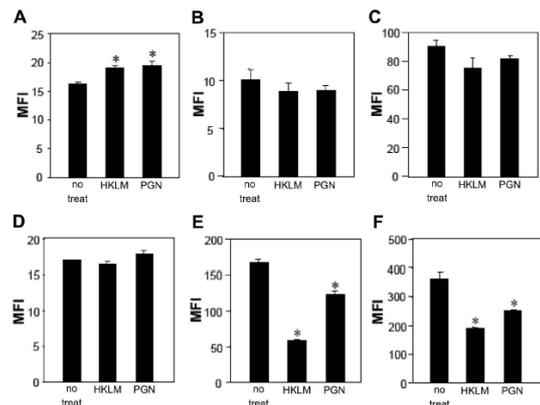


図 7 ; A-C; LC, D-F; DC  
CD4 (A, D), CCR5 (B, E), Langerin (C),  
DC-SIGN (F)

以上より、臆に STD として存在するグラム陽性細菌の構成要素が LC 上の TLR2 を介して認識されることにより、生体内での HIV 感染および播種の増強が引き起こされていると考えられた。

#### 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)

[雑誌論文] (計 1 件)

Gram-positive bacteria enhance HIV-1 susceptibility in Langerhans cells, but not in dendritic cells, via Toll-like receptor activation.

Ogawa Y, Kawamura T, Kimura T, Ito M, Blauvelt A, and Shimada S.

*Blood*. 2009 May 21;113(21):5157-66.

[学会発表] (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小川 陽一 (OGAWA YOUICHI)  
山梨大学・医学部附属病院 ・ 助教  
研究者番号 : 20377542

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし