

機関番号: 13501

研究種目: 基盤研究(C)

研究期間: 2008~2010

課題番号: 20591340

研究課題名(和文) ヒトCD34陽性細胞移植NOGマウスを用いた経膺/経皮ウイルス感染モデルの開発

研究課題名(英文) Human CD34+ cell-transplanted NOG mouse model for HIV transmission via skin or mucosa

研究代表者

川村 龍吉(KAWAMURA TATSUYOSHI)

山梨大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 70262657

研究成果の概要(和文): ヒトCD34陽性細胞移植NOGマウスでは脾臓内にヒト樹状細胞が生存していることが確認された。またNOGマウス皮膚では創傷治癒過程において骨髄に移植したヒトCD34陽性細胞が皮膚内樹状細胞に分化することが確認された。これらの実験結果から、ヒトCD34陽性細胞移植NOGマウスが経膺/経皮ウイルス感染モデルとして応用可能なことが示唆された。

研究成果の概要(英文):

We could detect human splenic dendritic cells in the Human CD34+ cell-transplanted NOG mouse. Furthermore, we could detect human dermal DCs and/or Langerhans cells in the murine skin, during the wound repairing. These findings clearly indicated that the Human CD34+ cell-transplanted NOG mouse are useful model for HIV transmission via skin or mucosa.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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: HIV, 動物モデル, 樹状細胞, CCR5阻害薬, NOGマウス

1. 研究開始当初の背景

HIV感染症は世界で年間約5百万人もの新規感染者が発生しており、その約90%が性行為による感染である。2006年のAIDS国際会議において、ビル・ゲイツが「HIV侵入阻害外用剤など女性自身が生命を守ることでできる手段を確立することが緊急課題だ」と述べているが、侵入阻害剤開発に必須である「HIVの生体内侵入メカニズム」そのものが未だ解

明されていないのが現状である。これは、この研究分野に皮膚科学、ウイルス学および免疫学の統合的な専門知識と研究技術が要求されるためであると推測されるが、とりわけ性感染症をその専門分野としてもつ皮膚科学における研究の遅れがあることは否めない。この現状を顧みれば、HIV感染メカニズムの解明は急務であり、皮膚科学分野における最優先の研究課題といっても過言ではない。しか

し、以下のような理由で、我々の目的に即した優れた HIV 感染動物モデルが存在しないのが現状である。(1) HIV はヒトとチンパンジーにしか感染せず、チンパンジーは感染しても AIDS を発症しない。(2) このため、現在サル免疫不全ウイルス (SIV) の系が主に前臨床試験に用いられているが、HIV そのものを感染させてはいないため、その動物モデルとしての有用性に疑問が残されている。(3) ヒト末梢血をマウスに移植した SCID-hu PBS モデルがあるが、血液細胞の生着率に問題があり、長期間の HIV 感染を観察できない。

最近複合免疫不全 (NOD/SCID/・nu11:NOG) マウスにヒト臍帯血 CD34 陽性血液幹細胞 (hCBSC) を移植したキメラにおいて、ヒトの T、B、NK 細胞がマウスの各臓器、リンパ組織および末梢血に長期間生着することが明らかとなった。また既に、ヒト末梢血細胞を NOG マウス腹腔内に移植するだけで、HIV 接種後、このマウスに AIDS が発症することが報告されている。

2. 研究の目的

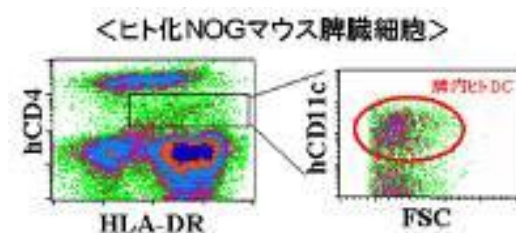
本研究の目的は、NOG マウスにヒト臍帯血 CD34 陽性血液幹細胞を移植したヒト化 NOG マウスを用いて、HIV の経膈・経皮感染モデルを開発することにある。

3. 研究の方法

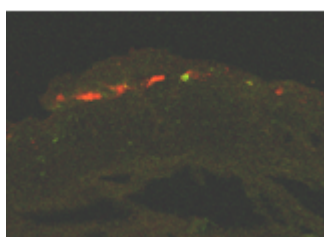
- (1) ヒト化 NOG マウス皮膚におけるヒト樹状細胞の解析
- (2) ヒト化 NOG マウス膈のヒト LC/DC 再構成実験
- (3) 経膈 HIV 感染モデルにおける CCR5 阻害薬の HIV 感染予防効果の検討

4. 研究成果

(1) CD34 Progenitor Cell Isolation Kit (Miltenyi Biotec) を用いて CD34 陽性血液幹細胞を調整し、8-12 週令 NOG マウスに X 線照射 (2.2Gy) 後、CD34 陽性血液幹細胞を尾静脈より i.v. し、移植した。移植後 3 か月後のヒト化 NOG マウスの末梢血、リンパ節および脾臓を摘出し、各々にヒト T・B 細胞が存在することを抗ヒト (h) CD3/hCD19 抗体染色を用いて FACS にて確認し、ヒト DC の存在の有無を抗 HLA-DR 抗体および抗 hCD11c 抗体染色を用いて FACS にて検討した。移植 3 か月後のヒト化 NOG マウスの脾臓に HLA-DR 陽性かつ hCD11c 陽性のヒト DC が存在した。



上記実験により、ヒト CD34 陽性血液幹細胞から DC への in vivo での分化が観察されたが、移植 3 か月後のヒト化 NOG マウス皮膚にはヒト LC/DC は存在しなかった。そこで、ヒト化 NOG マウス背部皮膚に皮膚欠損を作成し、1 か月後その創傷治癒後の組織を免疫染色したところ、表皮/真皮内にヒト LC および DC が観察された



(2) 我々は、正常マウス膈粘膜を損傷させるためにグリコール酸を膈内に注入した実験において、粘膜の完全欠損およびその再生を確認している。そこで、ヒト化 NOG マウス膈内にグリコール酸を注入し粘膜創傷を作成し、4 週後に創傷治癒後の組織を蛍光免疫染色にて検討した。しかし、同膈粘膜組織内にヒト LC/DC の再構成を確認することはできなかった。

(3) 上記の如く、膈粘膜創傷治癒後のヒト化 NOG マウス膈にヒト LC/DC を再構成できなかったため、経膈 HIV 感染・AIDS 発症の有無および CCR5 阻害薬の HIV 感染予防効果の検討はできなかった。しかし、ヒト化 NOG マウス皮膚におけるヒト樹状細胞の再構築は上記の如く可能であったことより、現在モデルを経膈感染から経皮膚感染へと変更し、体表の創傷治癒後皮膚に HIV を曝露し、真皮内ヒト樹状細胞が HIV に感染するか否か、あるいはこのヒト化 NOG マウスが AIDS を発症するかについて検討中である。この実験系において経皮的 HIV 曝露による HIV 感染が成立した場合は、この系に対して CCR5 阻害薬の HIV 感染予防効果等を検討する予定である。

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 7 件)

① Aoki R, Mitsui H, Harada K, Kawamura T, Shibagaki N, Tsukamoto K, Murata S, Shimada S. A case of lymphoepithelioma-like carcinoma of the skin associated with Epstein-Barr virus infection. J AM ACAD DERMATOL. 2010 62(4):681-4.

査読あり

② Nakagomi D, Harada K, Yagasaki A, Kawamura T, Shibagaki N, Shimada S. Psoriasiform eruption associated with alopecia areata during infliximab therapy.

Clin Exp Dermatol. 2009 Dec;34(8):923-4.

査読あり

③ Nakamura Y, Kambe N, Deguchi N, Kawamura T, Shibagaki N, Matsue H, Shimada S.

Agminated acquired melanocytic naevus modified by vitiligo vulgaris arising in the elderly.

Clin Exp Dermatol. 2009 Oct;34(7):e377-8.

査読あり

④ Nakano H, Nakamura Y, Kawamura T, Shibagaki N, Matsue H, Aizu T, Rokunohe D, Akasaka E, Kimura K, Nishizawa A, Umegaki N, Mitsuhashi Y, Shimada S, Sawamura D. Novel and recurrent nonsense mutation of the SLC39A4 gene in Japanese patients with acrodermatitis enteropathica.

Br J Dermatol. 2009 Jul;161(1):184-6.

査読あり

⑤ Ogawa Y, Kawamura T, Kimura T, Ito M, Blauvelt A, Shimada S.

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

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

査読あり

⑥ Mitsui H, Shibagaki N, Kawamura T, Matsue H, Shimada S.

A clinical study of Henoch-Schönlein Purpura associated with malignancy.

J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009 Apr;23(4):394-401.

査読あり

⑦ Ogawa Y, Kawamura T, Furuhashi M, Tsukamoto K, Shimada S.

Improving chemotherapeutic drug penetration in melanoma by imatinib

mesylate.

J Dermatol Sci. 2008 Sep;51(3):190-9.

査読あり

[学会発表] (計 13 件)

①川村龍吉, HIV の生体内侵入メカニズム, シンポジウム 2 ; HIV 研究の新しい展開, 第 58 回日本ウイルス学会, 徳島市, 2010 年 11 月 7 日

② Kawamura T. : Strategies to prevent sexual transmission of HIV. The 11th KUMAMOTO AIDS Seminar / Global COE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan. 2010 October 7

③川村龍吉, CCR5 阻害剤内服による性行為 HIV 感染予防の試み, エイズ予防財団主催第 12 回白馬シンポジウム in 徳島 -最先端のエイズ研究を徹底討論する-, 徳島市, 2010 年 5 月 15 日

④川村龍吉, 教育講演, HIV 感染症の現状と治療指針, 第 109 回日本皮膚科学会総会, 大阪市, 2010 年 4 月 18 日

⑤ Kawamura T. : Galderma Award Lecture. The 34th Annual Meetings of the Japanese Society for Investigative Dermatology. Fukuoka, Japan. 2009 December 10

⑥川村龍吉, 自然免疫、獲得免疫および自己免疫におけるランゲルハンス細胞の役割, 第 16 回 皮膚科リサーチセミナー, 名古屋市, 2009 年 11 月 17 日

⑦ Kawamura T. : Mechanisms responsible for the enhanced HIV transmission by HSV2. Satellite symposium. The 10th KUMAMOTO AIDS Seminar / Global COE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan. 2009. September. 29

⑧ Kawamura T., Ogawa Y, Shimada S. : Mechanisms responsible for the enhanced HIV transmission by STDs. The 10th KUMAMOTO AIDS Seminar / Global COE Joint International Symposium. Kumamoto, Japan. 2009. September. 28

⑨ Kawamura T. : Mechanism for HIV invasion via skin or mucosa. The 4th Joint Meeting of Japanese Dermatological Association and Australasian College of Dermatologists. Sapporo, Japan, 2009. July 10

⑩川村龍吉, 性行為 HIV 感染における HIV の生体内侵入メカニズム, 第 18 回 北海道性感染症研究会, 札幌市, 2009 年 6 月 19 日

⑪川村龍吉, STD による HIV 感染促進メカニズム, エイズ予防財団主催第 11 回白馬シンポジウム in 長崎 -エイズ研究最前線-, 長崎市, 2008 年 12 月 6 日

⑫川村龍吉, A I D S と S T D, 第 44 回山梨大学医師会講座, 甲府市, 2008 年 11 月 7 日

⑬川村龍吉, HIV の生体内侵入メカニズム, 第 6 回 Kumamoto Dermatological Academy, 熊本市, 2008 年 10 月 9 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川村 龍吉 (KAWAMURA TATSUYOSHI)

山梨大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 : 70262657

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし