

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791143

研究課題名(和文) マラビロク内服後の精液暴露による経皮的ヒト免疫不全ウイルス感染阻害効果

研究課題名(英文) Blocking effect for percutaneous HIV infection by exposure of semen collected after oral administration of Maraviroc

研究代表者

松澤 高光 (MATSUZAWA, Takamitsu)

山梨大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40568028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：HIVに対する有効なワクチン療法が存在しない現在、HIV感染予防法の開発が急務である。本研究では、抗HIV薬としてHIV治療にすでに使用されているCCR5阻害薬のMaraviroc (MVC)内服後の精液暴露が、HIV感染阻害効果を増強しうるかどうかを検討した。表皮水疱蓋を用いたex vivo HIV感染モデルを用いて検討したところ、精液を採取される被験者のMVC内服(1日、2日、3日、ないし14日間)の有無は、別の被験者の表皮に対するex vivoでの精液暴露により、HIV感染初期の標的細胞の1つとして考えられている表皮内ランゲルハンス細胞(LCs)のHIV感染に対して有意に影響しなかった。

研究成果の概要(英文)：In light of the absence of a prophylactic vaccine, therapeutic strategies that reduce sexual transmission of HIV are urgently needed.

In this study, we evaluated whether exposure of semen collected after oral administration of Maraviroc (MVC), which is an orally available antagonist for CCR5 and has been clinically used for AIDS therapy, demonstrated potent blocking effect for HIV infection or not. We evaluated by using an ex vivo skin explant model. Even if volunteers were orally administered MVC (600mg/day) for 1, 2, 3, or 14 days and then semen was collected, exposure of semen to epidermal sheets obtained from another volunteers had not significant blocking effect for HIV infection in epidermal LCs.

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感染予防法

1. 研究開始当初の背景

現在世界における新規 HIV 感染者数は年間約 250 万人にものぼっており、本邦での新規 HIV 感染者数も依然年間千人を上まわっている。HIV に対する有効なワクチン療法が存在しない現在、HIV 感染予防法の開発が急務である。現在、HIV 感染予防法として、包茎手術（割礼）、性器ヘルペス感染症などの性感染症の治療、抗 HIV 薬（ツルバダ：エムトリシタピンとテノホビルジソプロキシル fumarate の配合剤）の内服、マイクロビサイドの開発が主に行われている。

一方、「異性間性行為 HIV 感染におけるウイルスの主な侵入門戸は粘膜・皮膚内ランゲルハンス細胞（LCs）である」というこれまで我々が提唱してきた仮説が近年世界的に認められつつある。近年我々は、表皮水疱蓋を用いた *ex vivo* HIV 感染モデルを用い、性行為 HIV 感染における CCR5 阻害薬；Maraviroc（シーエルセントリ：ファイザー製薬）の経皮的 HIV 感染阻害効果を検討し、同モデルにおける経皮 HIV 感染予防効果を確認していた。さらに、Maraviroc（MVC）内服後の Discordant couples の AIDS 男性から、同剤の精液への移行も確認していた。さらに当研究室では、MVC（300 mg x 2/日）を 1 日、2 日、3 日、あるいは 14 日間内服した健常ボランティア（各 5 名）から精液を採取し（最終内服 2 時間後）MVC 濃度を測定し、MVC 内服後の精液中への移行も確認していた。

以上の背景より、予防薬としての MVC 内服後の精液暴露も、異性間接触時の HIV 感染阻害効果を増強しうるかどうか研究することとした。

2. 研究の目的

予防薬として MVC 内服後の精液暴露が、異性間接触時の HIV 感染阻害効果を増強しうるかどうか研究することとした。

3. 研究の方法

(1) 健常ボランティア（各 3 名）に、MVC を 1 日、2 日、3 日ないし 14 日間内服してもらい、内服後精液を採取した。また、同ボランティアより、MVC を内服しない時期に精液を採取した。次に、MVC を内服しない異なるボランティアから表皮水疱蓋を採取し、その表皮シートに *ex vivo* で、MVC 内服後の精液と HIV（HIVBaL; R5 HIV）を 2 時間曝露する場合、MVC を内服していない精液と HIV を 2 時間曝露する場合、HIV のみ 2 時間曝露する場合に分け、～ につき、フローサイトメトリーで 3 日後に表皮から遊走したランゲリン陽性 CD11c 陽性ランゲルハンス細胞（LCs）の HIV 感染率を、さらに、遊走した LCs と自己 CD4 陽性 T 細胞を共培養し、共培養 12 日後に ELISA にて培養上清中の HIVp24 蛋白量を測定し、LCs から自己 CD4 陽性 T 細胞への HIV 播種・伝播能を比較した。

(2) 健常ボランティア（各 2 名）に、MVC を 1 日、2 日、3 日ないし 14 日間内服してもらい、MVC を 1 日ないし 2 日内服した異なる健常ボランティアから採取した表皮シートを用いて、(1)と同様の研究を行った。異なる健常ボランティアの MVC 内服期間であるが、3 日間以上 MVC を内服した健常ボランティアから採取した表皮シートでは、フローサイトメトリーで 3 日後に表皮から遊走した LCs の HIV 感染率、ELISA で表皮から遊走した LCs から自己 CD4 陽性 T 細胞への HIV 播種・伝播能ともに完全に抑制されることが、当研究室の前実験にて確認されていた。そのため、MVC 内服期間は 1 日ないし 2 日とした。

4. 研究成果

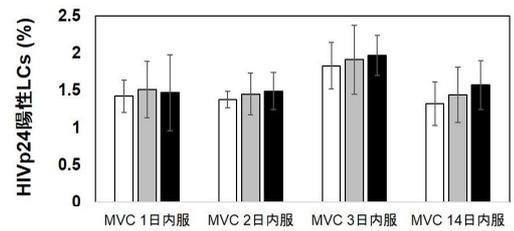
(1)

MVC を 1 日、2 日、3 日ないし 14 日間内服した群 (各 3 名) からの精液を用いて、MVC を内服していない別の健常ボランティアから得られる表皮シートに、MVC 内服後の精液と HIV (HIVBaL; R5 HIV) を 2 時間曝露する場合、MVC を内服していない精液と HIV を 2 時間曝露する場合、HIV のみ 2 時間曝露する場合に分け、3 日後に表皮から遊走したランゲルハンス細胞 (LCs) の HIV 感染率をフローサイトメトリーで解析した。LCs の HIV 感染率の平均値 \pm SD は、MVC を 1 日内服後の精液に関して $1.42 \pm 0.22\%$ 、 $1.51 \pm 0.38\%$ 、 $1.47 \pm 0.51\%$ と有意差は認めなかった。MVC を 2 日内服後の精液に関しても、 $1.38 \pm 0.11\%$ 、 $1.45 \pm 0.28\%$ 、 $1.49 \pm 0.25\%$ と有意差は認めなかった。MVC を 3 日内服後の精液に関しても、 $1.83 \pm 0.31\%$ 、 $1.91 \pm 0.46\%$ 、 $1.97 \pm 0.27\%$ と有意差は認めなかった。MVC を 14 日内服後の精液に関しても、 $1.32 \pm 0.29\%$ 、 $1.44 \pm 0.37\%$ 、 $1.57 \pm 0.33\%$ と有意差は認めなかった (図 1a)。

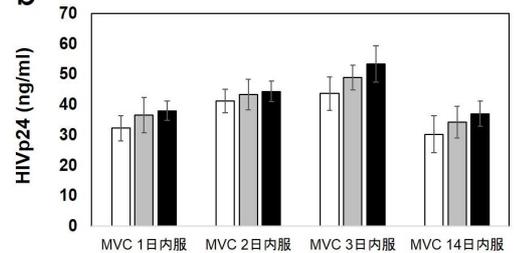
さらに、遊走した LCs と自己 CD4 陽性 T 細胞の共培養 12 日後に ELISA にて培養上清中の HIVp24 蛋白量を測定し、LCs から自己 CD4 陽性 T 細胞への HIV 播種・伝播能を比較した。HIVp24 (ng/ml) の平均値 \pm SD は、MVC を 1 日内服後の精液に関して 32.23 ± 4.18 、 36.47 ± 5.85 、 37.91 ± 3.23 と有意差は認めなかった。MVC を 2 日内服後の精液に関しても、 41.18 ± 3.92 、 43.28 ± 4.94 、 44.29 ± 3.36 と有意差は認めなかった。MVC を 3 日内服後の精液に関しても、 43.62 ± 5.52 、 48.94 ± 4.08 、 53.26 ± 5.98 と有意差は認めなかった。MVC を 14 日内服後の精液に関しても、 30.18 ± 6.12 、 34.21 ± 5.16 、 36.95 ± 4.19 と有意差は認めなかった (図 1b)。

図 1

a



b



(2)

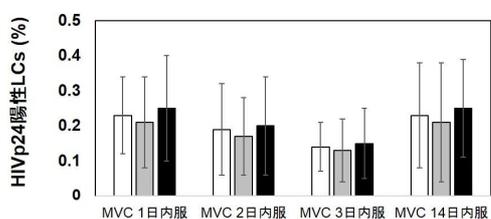
MVC を 1 日、2 日、3 日ないし 14 日間内服した群 (各 2 名) からの精液を用いて、MVC を 1 日内服した別の健常ボランティアから得られる表皮シートに、MVC 内服後の精液と HIV (HIVBaL; R5 HIV) を 2 時間曝露する場合、MVC を内服していない精液と HIV を 2 時間曝露する場合、HIV のみ 2 時間曝露する場合に分け、3 日後に表皮から遊走したランゲルハンス細胞 (LCs) の HIV 感染率をフローサイトメトリーで解析した。LCs の HIV 感染率の平均値 \pm SD は、MVC を 1 日内服後の精液に関して $0.23 \pm 0.11\%$ 、 $0.21 \pm 0.13\%$ 、 $0.25 \pm 0.15\%$ と有意差は認めなかった。MVC を 2 日内服後の精液に関しても、 $0.19 \pm 0.13\%$ 、 $0.17 \pm 0.11\%$ 、 $0.20 \pm 0.14\%$ と有意差は認めなかった。MVC を 3 日内服後の精液に関しても、 $0.14 \pm 0.07\%$ 、 $0.13 \pm 0.09\%$ 、 $0.15 \pm 0.10\%$ と有意差は認めなかった。MVC を 14 日内服後の精液に関しても、 $0.23 \pm 0.15\%$ 、 $0.21 \pm 0.17\%$ 、 $0.25 \pm 0.14\%$ と有意差は認めなかった (図 2a)。

さらに、遊走した LCs と自己 CD4 陽性 T 細胞の共培養 12 日後に ELISA にて培養上清中の HIVp24 蛋白量を測定し、LCs から自己 CD4 陽性 T 細胞への HIV 播種・伝播能を比較した。

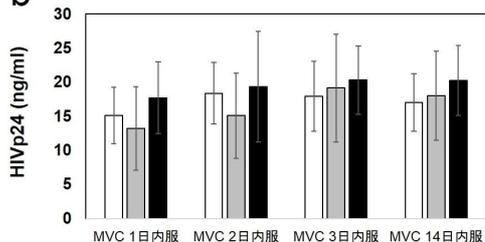
HIVp24(ng/ml)の平均値±SD は、MVC を 1 日内服後の精液に関して 15.12 ± 4.17、13.25 ± 6.12、17.73 ± 5.28 と有意差は認めなかった。MVC を 2 日内服後の精液に関しても、18.38 ± 4.52、15.10 ± 6.27、19.33 ± 8.13 と有意差は認めなかった。MVC を 3 日内服後の精液に関しても、17.92 ± 5.15、19.18 ± 7.91、20.31 ± 5.04 と有意差は認めなかった。MVC を 14 日内服後の精液に関しても、17.05 ± 4.24、18.03 ± 6.54、20.23 ± 5.13 と有意差は認めなかった (図 2b)。

図 2

a



b



MVC を 2 日内服した別の健常ボランティアから得られる表皮シートを用いた場合でも上記と同様の結果が得られた。

以上の結果より、精液を採取される被験者の MVC 内服 (1 日、2 日、3 日、ないし 14 日間) の有無は、別の被験者の表皮に対する ex vivo での精液曝露により、HIV 感染初期の標的細胞の一つとして考えられている表皮内 LCs の HIV 感染に対して有意には影響しなかった。この結果より、予防薬として MVC 内服後の精液曝露は、異性間接触時の HIV 感染阻害効果を有意に増強しないことが示唆された。

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)

(雑誌論文)(計1件)

(1) Matsuzawa T, Kawamura T, Ogawa Y, Takahashi M, Aoki R, Moriishi K, Koyanagi Y, Gatanaga H, Blauvelt A, Shimada S. Oral Administration of the CCR5 Inhibitor, Maraviroc, Blocks HIV Ex Vivo Infection of Langerhans Cells within the Epithelium; J Invest Dermatol, 査読有, 133(12), 2803-5, 2013, DOI: 10.1038/jid.2013.215.

6. 研究組織

(1)研究代表者

松澤 高光 (MATSUZAWA Takamitsu)

山梨大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40568028