

## 重度免疫不全 NOG マウスの改良・改変によるヒト化モデル 動物の基盤創設

Basic study to establish “humanized animal model” by  
improvement and modification of severely immunodeficient  
NOG mouse

伊藤 守 (ITO MAMORU)

財団法人実験動物中央研究所・免疫研究室・室長



### 研究の概要

我々が開発した高度免疫不全 NOD/SCID/ $\gamma$ C<sup>null</sup>(NOG)マウスは、ヒトの細胞、組織や臓器を高生着させるマウスである。このマウスに様々なヒト因子やサイトカイン等を分泌させることなど、さらに改良を加えることによって、「ヒト化動物モデル」の作出のための基盤となる高度免疫不全マウスを作製する。

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：実験動物、免疫不全マウス、NOG マウス、ヒト化モデル、発生・分化

#### 1. 研究開始当初の背景

(1)我々が作製した重度免疫不全 NOG (NOD/Shi-*scid*, IL-2R $\gamma$  KO)マウスがヒト細胞の生着性が極めて高く、このことからヒト化モデル作製の最適な実験動物であることが明らかとなった。

(2)我々と同様のマウスを米国・Jackson 研究所の Dr. Shultz が発表し、その有用性を確認したと同時に米国で本マウスを柱としたヒト化モデル研究が提案された。

#### 2. 研究の目的

ヒト化動物（ヒトの免疫系完全構築、ヒト特定細胞生着増殖、ヒト組織・臓器易生着）の作出のための基盤となる高度免疫不全マウスの作製である。

#### 3. 研究の方法

(1) ヒト細胞の生着と分化を支持するヒト因子遺伝子をNOGマウスに導入し、ヒト幹細胞の生着を促進させるマウスの作製、または生着細胞を特定方向に分化させるマウスの作製

(2) ヒトHLA遺伝子を導入したNOGマウスを作製し、ヒト幹細胞移入後にヒト型IgGを産生させる完全ヒト免疫系構築マウスの作製

(3) NOGマウスへの他免疫不全形質の

導入、特定細胞を除去する遺伝子の導入によって、ヒト細胞の生着性を向上させるマウスの作製

(4) NOGマウスへのヒト細胞導入方法の検討などによるヒト化動物作製法の適正化、を行う。解析は、ヒト血液幹細胞移入後のヒト細胞の生着と分化をFACSCantoおよび免疫組織学手法で検討する。

#### 4. これまでの成果

(1) 18～20年度の3年間で、13 Tg 系統を含む 25 系統の免疫不全マウスを確立した

(2) 5 Tg 系統を含む 9 系統の免疫不全マウスを現在、作製継続中である。

確立した免疫不全マウスを用いて、以下の結果が現在まで得られている。

(3) *c-Kit* 変異を持つ NOG-Wv/Wv マウスでは X 線を照射しなくても、従来の X 線照射 NOG マウスに比べ、極めて高いヒト細胞の生着率が得られることが判明した。

Notch ligand である Jagged-1 および Delta like-1 を導入した NOG マウスで、骨形成に極めて対極的な表現型が認められた。すなわち、Delta like-1 を導入した NOG マウスでは、髄質部分が縮小し、大理石病様の病態を示し、ヒト血液幹細胞移植でもヒト大理石病に認められる B 細胞の低下が認められた。このことからヒト大理石病のモデルとして使用

#### 〔4. これまでの成果 (続き)〕

できる可能性が示唆された。本結果は、平成20年度日本骨代謝学会に報告した。

(4) ウロキナーゼタイププラスミノゲンアクチベータ (uPA) Tg NOG マウスを作製した。これらマウスは自然にマウス肝臓細胞が死滅する。このマウスにヒト肝細胞を移入することによって、ヒト肝臓がマウスのもので60~80%置換するマウスが作製できた。本マウスは、C型肝炎ウイルス感染研究、マラリア肝内発育モデルおよび薬剤の安全性試験など、広範囲に使用できるヒト肝臓化マウスと考えられる。これら結果はBBRC (2008) に発表した。

(5) NOGマウスでのヒト末梢血単核球移入後に起こるGVHDを他免疫不全マウスと比較した。その結果、NOGマウスモデルは短期でGVHDを発症する新しいモデルであることが明らかにできた。このモデルの特徴は、通常の免疫不全マウスでは難しい静脈内投与によるGVHD誘起が可能であること、しかもX線照射しなくても可能である点で極めて有力なモデルと考えられた。本結果は、Transplantationに発表予定。

(6) NOGマウスでのヒト細胞高生着性の検討を行った。すなわち、NOD-scidやNOD-scid-mIFN $\gamma$  KOマウスの脾細胞または分画を移入後、ヒト末梢血単核球を移入し、GVHD (細胞の増殖性) を指標にヒト細胞高生着性に関与する細胞の特定を行った。現在までに、plasmatoïd樹状細胞がその役割を担っていることを明らかにした。この結果は第10回国際樹状細胞シンポジウム (神戸) に発表した。

(7) ヒト化マウス作製のためのヒト幹細胞移入法 (生体および新生児での移植) およびNOG、NOD-RAG2,  $\gamma$ C<sup>null</sup>、BALB/cA- RAG2,  $\gamma$ C<sup>null</sup>とNOD-scidマウスでのヒト細胞生着性を検討した。この結果、NOGマウス、NOD-RAG2,  $\gamma$ C<sup>null</sup>マウスが他の2系統に比べ、生着性が極めて高く、その傾向は前者マウスでは生体、新生児を使ってもほぼ同じであることを明らかにした。

#### 5. 今後の計画

(1) 現在、継続作製中の9系統免疫不全マウスを確立、完成させる。

(2) 確立できた免疫不全マウスにヒト造血幹細胞等に移入することによって、「ヒト化マウス」としての有用性を評価する。

(3) ヒト iPS 細胞の血液幹細胞への分化誘導法の予備的な検討およびNOGマウスでの分化、生着を検討する。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)

1. NOD/Shi-scid IL2 $\gamma$ (null) (NOG) mice more appropriate for humanized mouse models. **Ito, M.**, K. Kobayashi, and T. Nakahata. *Curr Top Microbiol Immunol* 324:53-76, 2008.
2. Establishment of a humanized model of liver using NOD/Shi-scid IL2R $\gamma$ null mice. Suemizu, H., M. Hasegawa, K. Kawai, K. Taniguchi, M. Monnai, M. Wakui, M. Suematsu, **M. Ito**, G. Peltz, and M. Nakamura. *Biochem Biophys Res Commun* 377:248-252, 2008.
3. A new humanized mouse model of Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. Yajima, M., K. Imadome, A. Nakagawa, S. Watanabe, K. Terashima, H. Nakamura, **M. Ito**, N. Shimizu, M. Honda, N. Yamamoto, and S. Fujiwara. *J Infect Dis* 198:673-682, 2008.
4. Quiescent human hematopoietic stem cells in the bone marrow niches organize the hierarchical structure of hematopoiesis. Yahata, T., Y. Muguruma, S. Yumino, Y. Sheng, T. Uno, H. Matsuzawa, **M. Ito**, S. Kato, T. Hotta, and K. Ando. *Stem Cells* 26:3228-3236, 2008.
5. Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses. Okuma, K., R. Tanaka, T. Ogura, **M. Ito**, S. Kumakura, M. Yanaka, M. Nishizawa, W. Sugiura, N. Yamamoto, and Y. Tanaka. *J Infect Dis* 197:134-141, 2008.

ホームページ等

<http://www.ciea.or.jp>