

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2006～2010

課題番号：18100005

研究課題名（和文）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  
研究課題名（英文）Basic study to establish “humanized animal model” by improvement and modification of severely immunodeficient NOG mouse

研究代表者

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

研究者番号：00176364

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. 研究計画の概要

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。

#### 2. 研究の進捗状況

(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。

(4) 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できる可能性が示唆された。

(5) 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

と 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。

(6) 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。

(7) 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、plasmacytoid 樹状細胞がその役割を担っていることを明らかにした。

(8) 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。

### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

本研究の目的は、我々が開発した高度免疫不全 NOD/SCID $\gamma$ C<sup>null</sup>(NOG)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ことである。現在までに、25 系統マウスを作製できたことは、その目的に向かって順調に推移していると考えている。

### 4. 今後の研究の推進方策

(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、ヒトがん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。

以上のように、今後は得られた新しい免疫不全マウスの応用を行っていく。

### 5. 代表的な研究成果

(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 26 件)

1. Ito, R., I. Katano, K. Kawai, H. Hirata, T. Ogura, T. Kamisako, T. Eto, and M. Ito. Highly sensitive model for xenogenic GVHD using severe immunodeficient NOG mice. *Transplantation* 87:1654-1658, 2009. (査読有)
2. NOD/Shi-scid IL2rgamma(null) (NOG) mice more appropriate for humanized mouse models. Ito, M., K. Kobayashi, and T. Nakahata. *Curr Top Microbiol Immunol* 324:53-76, 2008. (査読有)
3. Establishment of a humanized model of liver using NOD/Shi-scid IL2Rgnull 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. (査読有)
4. 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. (査読有)
5. 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. (査読有)

[学会発表] (計 23 件)

1. 安藤潔、八幡崇、六車ゆかり「ヒト幹細胞分化と維持モデル」シンポジウム「ヒト化動物の現状と今後」第 56 回日本実験動物学会総会. 009 年 5 月 14~16 日、大宮
2. 小柳義夫、佐藤佳、伊藤守「ヒト血液幹細胞移植マウスのウイルス病原性解析への利用」シンポジウム「ヒト化動物の現状と今後」第 56 回日本実験動物学会総会. 009 年 5 月 14~16 日、大宮
3. Ito M. 「Mouse models as “humanized mice”」2<sup>nd</sup> International workshop of humanized mice, 2009. 4. 3-6, Holland.
4. 伊藤亮治、片野いくみ、小倉智幸、川井健司、伊藤守 : 「Dendritic cells have a suppressive effect on xeno-GVHD in novel immunodeficient NOG mice」第 10 回国際樹状細胞シンポジウム. 2008 年 10 月 1 日~5 日. 神戸
5. 片野いくみ、伊藤亮治、川井健司、伊藤守 : 「C-kit 変異をもつ重度免疫不全 NOG-Wv マウスはヒト細胞の高い生着性を示す」第 38 回日本免疫学会. 2008 年 12 月 1 日~3 日. 京都

[産業財産権]

○取得状況 (計 3 件)

1. 「異種細胞の生着、分化および増殖に適したマウスの作出方法、該方法により作出されたマウスならびにそのマウスの用途」伊藤守他 9 名、財団法人実験動物中央研究所、日本特許第 3753321 号、平成 17 年 11 月 16 日 (国内)
2. 「Methods of producing a mouse suitable for the engraftment, differentiation and proliferation of heterologous cells, mouse produced by this method and use of the mouse」M, Ito et al., Central Institute for Experimental Animals, US 7,145,055 B2, Dec.5, 2006 (国外)
3. 「Methods of constructing mouse suitable for the take, differentiation and proliferation of heterogenous cells, mouse constructed by the method and use of the mouse」M, Ito et al., Central Institute for Experimental Animals, EP 1,338,198 B1, Oct.28, 2007 (国外)

[その他]

新聞記事掲載 :

1. 朝日新聞記事「平成 20 年 9 月 15 日」
2. 朝日新聞「平成 18 年 10 月 20 日」
3. 日経産業新聞「平成 18 年 10 月 11 日」

ホームページ :

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