

研究種目：特定領域研究  
研究期間：2007～2011  
課題番号：19059001  
研究課題名（和文）ヒト型免疫マウスモデルの作出と応用

研究課題名（英文） Reconstitution of Human Immune System in NOG Mice

研究代表者  
菅村 和夫 (SUGAMURA KAZUO)  
宮城県立がんセンター（研究所）・免疫学部・総長  
研究者番号：20117360

研究分野：医歯薬学  
科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学  
キーワード：ヒト免疫系、ヒト化マウス、免疫不全症

#### 1. 研究計画の概要

免疫不全 NOG マウスにヒト血液幹細胞を移植し、マウス中でヒト免疫系を再構築する。すなわち免疫系ヒト化マウスの作成を目指す。また、免疫系ヒト化マウスは骨髄中のヒト血液幹細胞の分化を解析するにあたり、理想的なシステムとなることから原発性免疫不全症や、T細胞の分化異常を伴う DiGeorge 症候群、好中球の分化異常を伴う Congenital Neutropenia など、細胞性免疫・自然免疫系疾患のヒト化病態モデルを作製する。これを基に細胞療法や遺伝子治療法の開発を行う。

#### 2. 研究の進捗状況

NOG マウスにヒトの臍帯血由来血液幹細胞を移植するとヒトの T、B、NK 細胞等がマウス内で発生、長期にわたり維持された。これらヒト化 NOG マウスにタンパク質抗原 (KLH) で免疫すると、KLH 特異的な IgM は大量に出現するが、IgG が検出されず、クラススイッチの障害が疑われた。これら B 細胞の約 50% が分化途中の移行期 (T1) B 細胞の段階で蓄積していた。これらマウスの脾臓内 T 細胞は *in vitro* での刺激に対してアポトーシスが誘導されるが、胸腺内 T 細胞は抗 CD3/D28 抗体刺激で正常な増殖反応を示した。また、マウス MHC-I ならびに MHC-II 欠損 NOG マウスへの移植でも、ヒト CD4<sup>+</sup> T 細胞ならびに CD8<sup>+</sup> T 細胞が共に出現した。また、KLH 免疫マウスの脾臓細胞を試験管内で再刺激しても IFN-g や IL-4 の産生はみられず、T 細胞の抗原特異的反応が惹起されていないことが示唆された。

従って、免疫系ヒト化 NOG マウスでは、B 細胞や T 細胞は再構築できるが、免疫応答能は不完全であることが分かった。他方、免疫系ヒト化マウスを用いて、EB ウイルス感染症の再現とウイルス感染細胞に対する HLA 拘束性をもったヒト細胞性免疫応答が誘導された。さらに、ヒト免疫不全症 (X 連鎖性無ガンマグロブリン血症と好中球減少症) の病態再現と治療モデルを構築した。

#### 3. 現在までの達成度

<評価>②おおむね順調に進展している。完全な免疫系ヒト化マウスの樹立までには至っていないが、構築されるヒト T、B 細胞の機能不全が解析できたこと、また、免疫系病態モデルマウスの構築も可能になったことから、研究計画に沿って順調に進展していると判断する。

#### 4. 今後の研究の推進方策

ヒト T 細胞が機能を保った状態で成熟できるヒト化マウスを開発する。そのために、

(1) HLA-DR0405 トランスジェニック (tg) NOG マウスを樹立する。(2) NOG マウスに正常マウス胸腺を移植し、正常に近い構造をもつ胸腺上皮で T 細胞の選択を行わせる。(3) 脾臓摘出 NOG マウスにヒトリンパ節を移植することにより、ヒト T 細胞がヒト 2 次リンパ組織と相互作用できるニッチを形成する。

(1) については現在進行中である。これらの環境下で発生するヒト T 細胞の機能解析を通して、マウス内に機能的ヒト T 細胞が発生

しうるのかをまず明らかにする。また、原発性免疫不全症の再現については(1) X連鎖性無 $\gamma$ グロブリン血症(XLA)患者由来血液幹細胞の移植による病態の再現、(2)正常BTK遺伝子導入による遺伝子治療、およびレンチウイルスベクターの開発、(3)T細胞の分化異常を伴うDiGeorge症候群、好中球の分化異常を伴うCongenital Neutropeniaのヒト化マウスでの再現を試みる。

#### 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31件)

1. Saito Y, Ishikawa F, et al.: Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML. *Nature Biotechnology* 28-3:275-280, 2010.
2. Ito R, Ito M, et al.: Highly sensitive model for xenogenic GVHD using severe immunodeficient NOG mice. *Transplantation* 87:1654-1658, 2009.
3. Watanabe Y, Takahashi T, Ito M, Sugamura K, et al.: The analysis of the functions of human B and T cells in humanized NOD/shi-scid/gammac(null) (NOG) mice (hu-HSC NOG mice). *Int. Immunol.* 21: 843-858, 2009.
4. Ito M, Kobayashi K and Nakahata T: NOD/Shi-scid IL2rgamma(null) (NOG) mice more appropriate for humanized mouse models. *Curr Top Microbiol Immunol* 324:53-76, 2008.
5. Ishikawa F, et al.: Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone marrow endosteal region. *Nature Biotechnology* 25:1315-1321, 2007.

[学会発表] (計61件)

1. 石川文彦「Translational medicine using humanized mouse」第39回日本免疫学会総会・学術集会 シンポジウム、大阪、平成21年12月3日
2. Ito R, Ito M, et al.: High sensitivity to xeno-GVHD in severely immunodeficient NOG mice attributable to dysfunction of dendritic cells. 第2回ヒト化マウス国際ワークショップ、平成21年4月3~6日、オランダ
3. Takahashi T, Ito M, Sugamura K, et al.: The analysis of the functions of human

B and T cells in humanized NOD/shi/ $\gamma$ cnul1 (NOG) mice (hu-HSC NOG mice). 第2回ヒト化マウス国際ワークショップ、平成21年4月3~6日、オランダ

[図書] (計18件)

1. Ishikawa F, et al. The differentiative and regenerative properties of human hematopoietic stem/progenitor cells in the NOD-SCID/IL2rg<sup>nu11</sup> mice. Springer, *Curr Top Microbiol Immunol* 324:87-94, 2008.

[産業財産権]

○出願状況 (計3件)

1. 名称:「白血病幹細胞マーカー」  
発明者: 石川文彦、小原收、齊藤頼子、北村浩、土方敦司、小澤秀俊  
権利者: 独立行政法人理化学研究所  
国内: 特願 2009-072400  
(平成21年3月24日出願)  
国際: PCT/JP2010/55131  
(平成22年3月24日PCT出願)
2. 名称:「白血病の再発予防薬」  
発明者: 石川文彦、齊藤頼子、Shultz LD  
権利者: 独立行政法人理化学研究所、Shultz LD  
国内: 特願 2009-052723  
(平成21年3月5日出願)  
国際: PCT/JP2010/053685  
(平成22年3月5日PCT出願)
3. 名称:「ヒト白血病幹細胞および白血病非幹細胞が増幅されたマウスおよびその製造方法」  
発明者: 石川文彦、齊藤頼子 (PCT: 石川文彦、齊藤頼子、小原收、Shultz LD)  
権利者: 独立行政法人理化学研究所、Shultz LD  
国内: 特願 2007-271870  
(平成19年10月1日)、  
国際: PCT/JP2008/068892  
(平成20年10月17日PCT出願)