

## キメラマウスで世界を救うまであと n 年-胎盤を介した究極の血液ヒト化マウス-

脚本 新 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 高橋 智 (筑波大学 医学医療系)

### 【背景・目的】

キメラ動物とは「2 つ以上の異なる遺伝子型の細胞あるいは異種の細胞からなる、1 個の生物個体」の事を指し、中でもマウス-ヒト間の異種キメラはヒト化マウスと呼ばれている。血液に関しては既に報告があり、現在確立されている血液ヒト化マウスモデルはヒトの病態や薬効評価などで活用されている。これまでのモデルでは、免疫不全マウスに対して放射線照射等の処理により造血幹細胞を欠損させた後ヒト造血幹細胞を移植することでヒト細胞からなる造血系を部分的に構築することに成功している。しかし残存した免疫細胞によって徐々にヒト細胞が減少していくこと、主要なヒト抗体である IgG をほとんど産生出来ないことなどが課題として挙げられている。

また、難病やガンに対する治療法において、抗体の特性を利用する抗体医薬であるオプジーボの使用に年間 1000 万円もの高額な薬剤費がかかること、さらにこのような抗体医薬として用いられている抗体はマウス細胞由来であるため、ヒト抗体と比較して不安定であることが大きな課題となっている。

当研究室では上記のような現在の血液ヒト化マウスや抗体医薬の持つ問題点を解決するため、免疫不全マウスを用いずにドナー由来の細胞で造血系が完全に再構築されている究極の血液ヒト化マウスの作製に取り組んできた。Runx1 は造血幹細胞の出現に不可欠な転写因子であり、Runx1<sup>-/-</sup>マウスは胎生 12.5 日 (E12.5) で胎児肝臓での成体型造血の欠如などにより死亡する。当研究室は Runx1<sup>-/-</sup>マウスにおいて血球特異的な GATA1 プロモーター (G1-HRD) を用いて Runx1 を卵黄嚢特異的に発現させることにより、造血幹細胞を完全に欠損したまま早期胎生致死を回避した Runx1<sup>-/-</sup>::G1-HRD-Runx1 Tg (Runx1<sup>-/-</sup>::Tg) マウスを作製した。さらにこの Runx1<sup>-/-</sup>::Tg マウス胎児の E11.5 においてマウス野生型造血幹細胞もしくはラット野生型造血幹細胞を経胎盤的に移植することで、レシピエントマウスの E18.5 胎児肝臓中の CD45 陽性細胞の 90%以上がドナー細胞によって再構築され、各血球へ分化していることを示した。

当研究室のモデルは免疫不全マウスを用いないため、現在の血液ヒト化マウスモデルの持つ欠点を一部克服したより良いモデルであると言える。しかしこれまでの研究では、当研究室の手法によって生着した造血幹細胞が造血系再構築能を維持しているか、ヒト細胞を移植出来るのかは確認されていなかった。そこで本研究では、Runx1<sup>-/-</sup>::Tg マウスに生着した造血幹細胞が放射線照射後の成体マウスの造血系を再構築できるか、さらに同様の手法によってヒト造血幹細胞が生着できるかについて実験を行った。

### 【方法】

ドナー細胞は、マウス細胞は野生型マウス胚 (E14.5) の胎児肝臓細胞、ヒト細胞はヒト臍帯血由来造血幹細胞 (筑波大学血液内科より分与) を 2 週間培養したものをを用いた。Runx1<sup>-/-</sup>::Tg 同士の交配によって得られる妊娠マウス (E11.5) に対し、胎盤からドナー細胞を移植した。移植一週間後 (E18.5) の胚から胎児肝臓を取り出し FACS 解析を行った。さらに、ここで取り出した胎児

肝臓細胞を致死量の放射線を照射した成体マウスに対して尾静脈から移植した。(Fig.1)

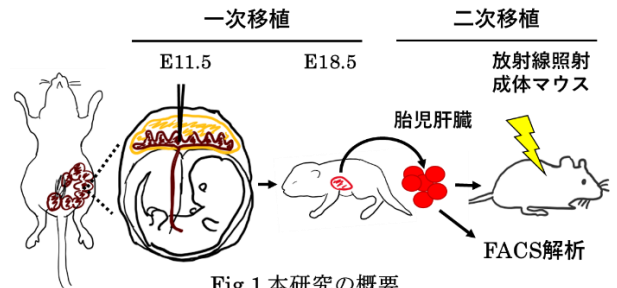


Fig.1 本研究の概要

### 【結果】

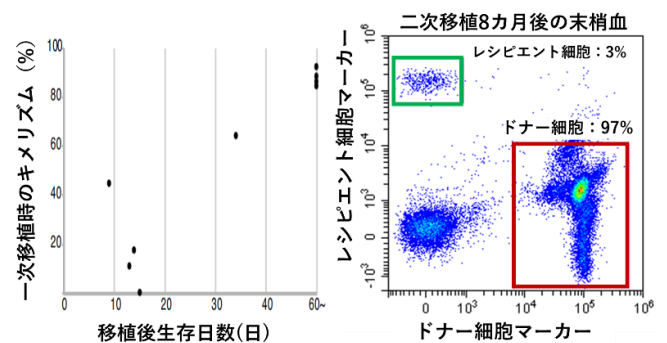


Fig.2 二次移植後生存日数 (左) 生存個体の末梢血の FACS 解析 (右)

二次移植を行った個体のうち 3 個体が長期間生存した。長期間生存した個体の血液細胞は 95%以上がドナー由来であった。(Fig.2)

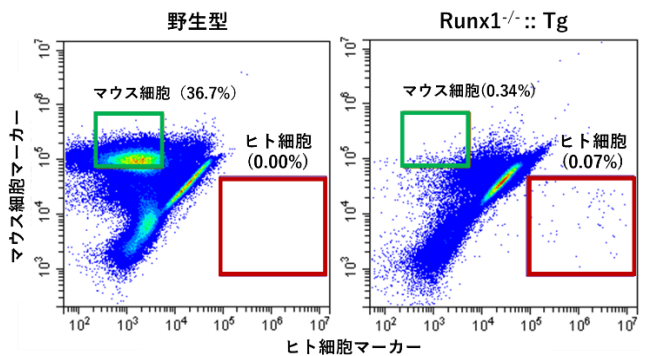


Fig.3 ヒト造血幹細胞を移植した E18.5 胎児肝臓の FACS 解析

野生型マウスに移植した場合ヒト細胞は検出されなかったが、Runx1<sup>-/-</sup>::Tg マウスに移植した場合ヒト細胞の集団が検出された。(Fig.3)

### 【考察】

致死量の放射線を照射された個体の造血系をほぼ完全に再構築し、長期間生存させた (Fig.2) ことから、本手法によって移植された造血幹細胞は造血系再構築能を維持したままレシピエントに生着出来ることが分かった。また、ヒト細胞をドナーとして生着させることができ (Fig.3)、レシピエントの血清には従来のヒト化マウスが産生することができなかったヒト IgG が存在していたことから (未発表データ)、将来的に本手法がヒト抗体を得るために有用であることが示唆された。