

ヒト化マウスを用いた難治性喘息モデルの開発

The development of human refractory asthma model using humanized mice

山田志保^{1), 2)}、丸岡秀一郎^{1), 2)}、福田麻佐美^{1), 2)}、黒澤雄介^{1), 2)}、豊島翔太^{1), 2), 3), 4)}、岡山吉道^{2), 3), 4)}、伊藤亮治³⁾、伊藤 守³⁾、権 寧博^{1), 2)}

Shiho YAMADA^{1), 2)}, Shuichiro MARUOKA^{1), 2)}, Asami Fukuda^{1), 2)}, Yusuke KUROSAWA^{1), 2)}, Shota TOYOSHIMA^{1), 2), 3), 4)}, Yoshimichi OKAYAMA^{2), 3), 4)}, Ryoji ITO³⁾, Mamoru ITO³⁾, Yasuhiro GON^{1), 2)}

¹⁾日本大学医学部 内科学系呼吸器内科学分野、²⁾日本大学医学部附属板橋病院 アレルギーセンター、

³⁾日本大学医学部 免疫・アレルギー学プロジェクトチーム、⁴⁾日本大学医学部 医学教育センター、

⁵⁾実験動物中央研究所

[要旨]

ヒト造血幹細胞を移入してヒト免疫系細胞を有したヒト免疫系細胞(好酸球、好塩基球、マスト細胞など)を有する IL3/G-CSF/IL5 トリプルトランスジェニックマウス(トリプル Tg マウス)への hIL-33 単独投与により BALF 中のヒト好酸球浸潤、IL-5、IL-13 産生、杯細胞過形成、気道過敏性亢進を認め、喘息病態を再現することができた。この hIL-33 単独投与による BALF 中のヒト好酸球浸潤、杯細胞過形成はステロイド投与によって抑制されるが、hIL-33+hTSLP 投与による BALF のヒト好酸球浸潤は、ステロイド投与後も抑制されず、ステロイド抵抗性を示した。以上よりこのヒト化マウスを用いることでヒト難治性喘息病態を再現でき、新たな分子病態の解明や新規薬剤開発できる可能性が示唆された。

[背景]

気管支喘息(以下、喘息)は慢性の気道炎症が主な病態であり、吸入ステロイドは治療管理において有効な薬剤であるが、その一方でステロイド抵抗性を有する難治性喘息患者が約 10%存在している。そのため難治性喘息の分子病態を解明し、新規治療薬を開発することは本疾患の克服において重要な課題である。近年、気道上皮由来のサイトカインである IL-33 及び Thymic stromal lymphopoietin(TSLP)が喘息の難治化(ステロイド抵抗性)に関与していることが報告され、¹⁾ 自然免疫を介した難治性喘息の分子病態が注目されている。しかし、ヒトにおいて難治性喘息の病態を再現し、難治性気道炎症を経時的に解析することは非常に困難である。

[目的]

本研究の目的は、ヒト造血幹細胞を移入してヒト免疫系細胞を有したヒト免疫系細胞(好酸球、好塩基球、マスト細胞など)を有する IL3/G-CSF/IL5 トリプルトランスジェニックマウス(トリプル Tg マウス)を用いて喘息モデルを構築し、²⁾ ヒト免疫細胞の難治化病態を解明することである。これにより、ヒト難治性喘息の新たな分子病態の解明や新規薬剤開発に応用できる可能性が示唆された。

[対象及び方法]

(1) マウス喘息モデル

本実験は「日本大学動物実験運営内規」を遵守し、動物実験計画書の通り行った。トリプル Tg マウスに humanIL-33(hIL-33)を気管内投与し、第 7 日に気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid; BALF)中のヒト好酸球数、ヒトサイトカインを測定した。また、肺組織への炎症細胞の浸潤および粘液細胞の過形成、気道過敏性亢進の有無を評価し、喘息病態形成を確認した。

(2) ヒト化マウスによるステロイド抵抗性喘息モデルの構築

トリプル Tg マウスに、第 1-3 日に humanIL-33(hIL-33)および humanTSLP(hTSLP)を気管内投与、ステロイドを第 0-3 日に腹腔内投与し、第 7 日に肺胞洗浄液中のヒト好酸球浸潤、ヒト IL-5 を検証し、ステロイド抵抗性の有無を評価した。

(3) 統計学的解析

データは Graphpad Prism Software(La Jolla, CA, USA)を使用し解析した。実験群間における比較には、正規分布を示すデータは学生 t 検定を用い、非正規分布を示すデータは Mann-Whitney U 検定を用いて評価した。有意水準は $p < 0.05$ とした。明記している場合を除いて、数値は平均値±標準誤差値で記載した。

[結果]

hIL-33 単独投与により BALF 中のヒト好酸球浸潤、IL-5、IL-13 産生、杯細胞過形成、気道過敏性亢進を認め、喘息病態を再現することができた。²⁾ hIL-33 単独投与による BALF 中のヒト好酸球浸潤、杯細胞過形成はステロイド投与によって抑制された。一方で hIL-33+hTSLP 投与による BALF のヒト好酸球浸潤は、ステロイド投与後も抑制されず、ステロイド抵抗性を示した(図 1)。

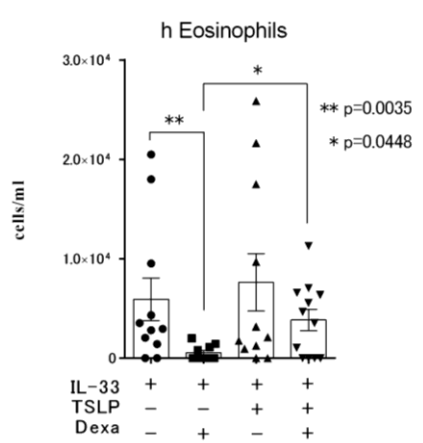


図 1 ヒト化マウスを用いた難治性喘息モデル作成

トリプル Tg マウスに、第 1-3 日に hIL-33(IL-33)+hTSLP(TSLP)を気管内投与、ステロイド(DEX)を第 0-3 日に腹腔内投与し、第 7 日に BALF 中のヒト好酸球(h Eosinophils)数を測定し、ステロイド抵抗性の有無を評価した。

[考察]

トリプル Tg マウスへの hIL-33+hTSLP 投与により、BALF のヒト好酸球浸潤は、ステロイド投与後も抑制されず、ステロイド抵抗性を示した。以上よりヒト化マウスを用いてヒト難治性喘息病態を再現することができた。

[結論]

ヒト化マウスによるヒト難治性喘息モデルを活用することで新たな分子病態の解明や新規薬剤開発できる可能性が示唆された。

[参考文献]

- ¹⁾Kabata H, Moro K, Fukunaga K, Suzuki Y, Miyata J, Masaki K, Betsuyaku T, Koyasu S, Asano K: Thymic stromal lymphopoietin induces corticosteroid resistance in natural helper cells during airway inflammation. *Nat Commun.* 2013; 4: 2675.
- ²⁾Ito R, Maruoka S, Soda K, Katano I, Kawai K, Yagoto M, Hanazawa A, Takahashi T, Ogura T, Goto M, Takahashi R, Toyoshima S, Okayama Y, Izuhara K, Gon Y, Hashimoto S, Ito M, Nunomura S: A humanized mouse model to study asthmatic airway inflammation via the human IL-33/IL-13 axis. *JCI Insight.* 2018; 3(21): e12158