

ヒト免疫化 HLA-DR4 transgenic NOD/Shi-scid, IL-2R γ null マウスを用いた Epstein-Barr virus 感染とびらん性関節炎の検討

The analysis of erosive arthritis infected Epstein-Barr virus using humanized HLA-DR4 transgenic NOD/Shi-scid, IL-2R γ null mouse

都築 広¹⁾、長澤洋介¹⁾、岩田光浩¹⁾、北村 登¹⁾、武井正美¹⁾

Hiroshi TSUZUKI¹⁾, Yosuke NAGASAWA¹⁾, Noboru KITaura¹⁾, Masami TAKEI¹⁾

¹⁾日本大学医学部 内科学系血液・膠原病内科学分野

[要旨]

ヒト免疫化 NOD/Shi-scid IL-2R γ null マウス(以下 hNOG マウス)に Epstein-Barr virus(EBV)を感染させると膝関節にびらん性関節炎を発症することを報告し、関節リウマチの発症に EBV 関与の可能性を証明した。しかし、関節リウマチ(以下 RA)の病態により近づけるため、RA の遺伝子系に関与している HLA-DR4 に着目し、HLA-DR4 トランスジェニック NOG マウスに HLA-DR4 陽性ヒト造血幹細胞を移植(以下 hHLA-DR4 Tg マウス)し、そこに EBV を感染させ、hNOG マウスと同様のびらん性関節炎発症について検討した。hHLA-DR4 Tg マウスは hNOG マウスと比較しヒト造血幹細胞移植の生着が不良だったが、膝関節や肺組織にリンパ球浸潤を主とする炎症性変化を認めた。しかし EBV 未感染のマウスでもリンパ球浸潤を認める所見が得られたことから非特異的な反応である可能性が考えられた。

[背景]

我々は以前に、hNOG マウスに EBV を感染させると膝関節にびらん性関節炎を発症することを報告し、関節リウマチの発症に EBV 関与の可能性を証明した。¹⁾ hNOG マウスの特徴として、外来抗原に対して IgG 抗体の産生がほとんどみられず、液性免疫系の機能が不十分であることが指摘されている。²⁾ 上記の EBV 感染 hNOG マウスの血清中に関節リウマチに関連する自己抗体を認めなかった。RA の病態には液性免疫が深く関わっており、hNOG マウスを利用した検討には限界がある。HLA-DR4 をトランスジェニックした NOG マウスに HLA-DR4 陽性ヒト造血幹細胞を移植して作製したヒト免疫化マウス(以下 hHLA-DR4 Tg マウス)は外来抗原に対して IgG 抗体を産生することが報告されており、³⁾ 従来の hNOG マウスの欠点を補う新たなマウスとして期待されている。

[目的]

今回、関節リウマチの疾患感受性遺伝子である HLA-DR4 を有する hHLA-DR4 Tg マウスに EBV を感染させ、関節リウマチ様のびらん性関節炎を誘導できるか、関節リウマチに関連する自己抗体が出現するかどうかを検討する。

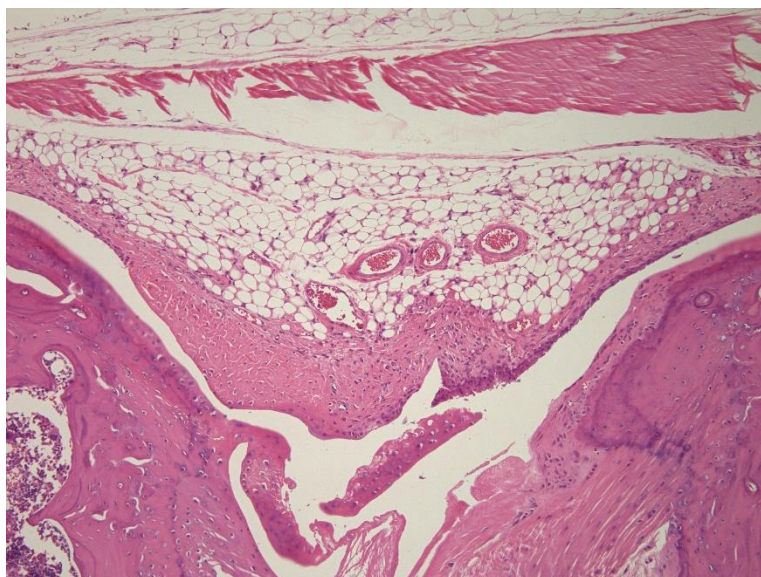
[方法]

生後 6～10 週のマウスに HLA-DR4 陽性のヒト臍帯血から採取した CD34 陽性細胞を経静脈的に投与して移植を行った。移植 12 週後に生着の状況を確認し、20 あるいは 200 Td の EBV を感染させ、感染後 16～20 週後に解剖して各臓器の組織学的所見を評価した。

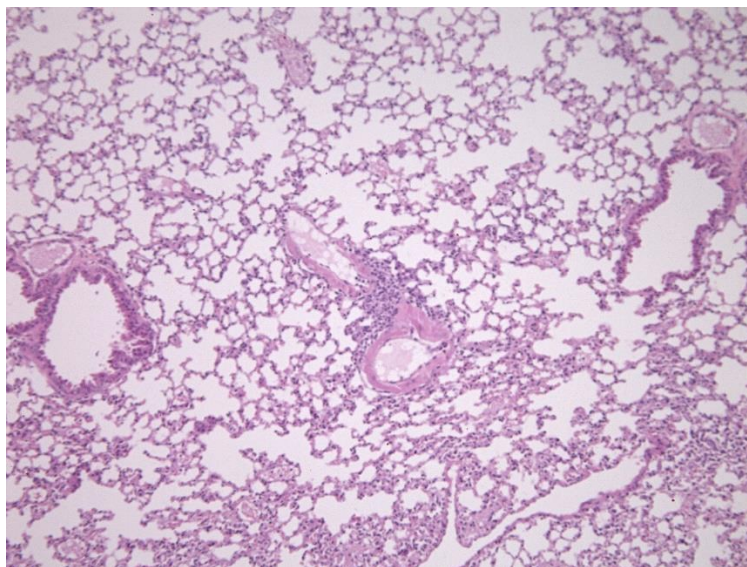
[結果]

現状の報告にとどまるが、hHLA-DR4 Tg マウスでは hNOG マウスと比較してヒト造血幹細胞移植の生着が不良で、また、EBV 感染の有無に関わらず膝関節や肺組織にリンパ球浸潤を主とする炎症性変化を認めた。

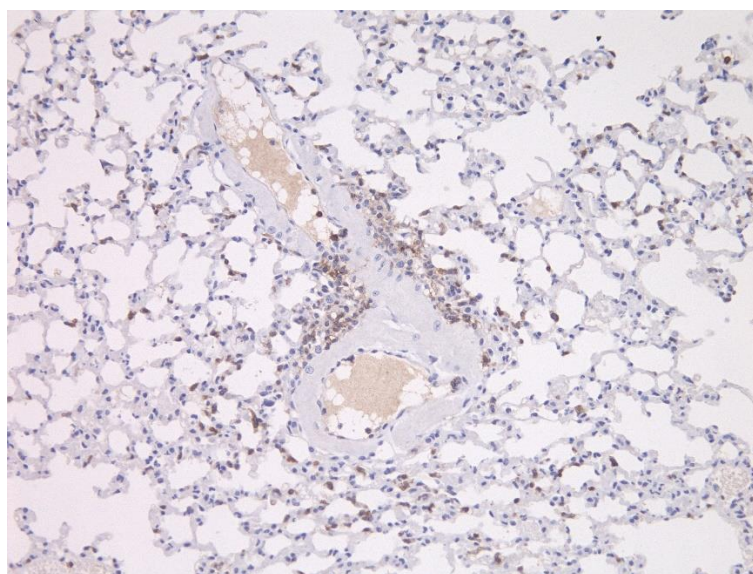
膝関節 HE 染色 (×200 倍)



肺組織 HE 染色 (×200 倍)



肺組織ヒト CD3 染色 (×400 倍)



[考察]

hHLA-DR4 Tg マウスで hNOG マウスと同様の EBV 感染によるびらん性関節炎発症を検討したが、以前の hNOG マウスと比較し骨髄生着率が低かった。これについては HLA-DR4 臍帯血の細胞濃度が一定でなく、CD34 細胞濃度が不均一な事が考えられた。さらに移植後、EBV 感染、未感染関わりなく、関節以外にも肺に炎症性細胞浸潤を認める事から GVHD 様の反応を示していることが考えられた。今後、HLA-DR4 臍帯血の CD34 細胞の量の検討、ならびに GVHD 様の反応がもたらす影響につき解析をする必要が認められた。

[結論]

hHLA-DR4 T_g マウスで hNOG マウスと同様の EBV 感染によるびらん性関節炎発症を検討し、関節、肺に炎症性細胞浸潤を認めたが、非特異的な反応の可能性が高かった。今後移植の生着率の改善、関節以外の組織への炎症細胞浸潤の発生機序を検討する。

[参考文献]

- ¹⁾Kuwana Y, Takei M, Yajima M, Imadome K, Inomata H, et al: Epstein-Barr virus induces erosive arthritis in humanized mice. PLoS One. 2011; 6: e26630.
- ²⁾Watanabe Y, Takahashi T, Okajima A, Shiokawa M, Ishii N, 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. 2009; 21: 843-858.
- ³⁾Suzuki M, Takahashi T, Katano I, Ito R, Ito M, et al: Induction of human humoral immune responses in a novel HLA-DR-expressing transgenic NOD/Shi-scid/ γ cnnull mouse. Int Immunol 2012; 24: 243-252.