

ヒト免疫化 HLA-DR4 transgenic NOD/Shi-scid, IL-2R γ null マウスを用いた graft versus host disease モデルの検討

The analysis of graft versus host disease model using humanized HLA-DR4 transgenic NOD/Shi-scid, IL-2R γ null mouse

都築 広¹⁾、長澤洋介¹⁾、長塚靖子¹⁾、岩田光浩¹⁾、北村 登¹⁾、武井正美¹⁾

Hiroshi TSUZUKI¹⁾, Yosuke NAGASAWA¹⁾, Yasuko NAGATSUKA¹⁾, Mitsuhiro IWATA¹⁾,
Noboru KITAMURA¹⁾, 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]

重症免疫不全マウス(HLA-DR4 transgenic NOD/SCID/IL-2R γ null マウス(以下 HLA-DR4 Tg マウス)に HLA-DR4 陽性のヒト造血幹細胞を移植してヒト免疫化したマウスモデルでは液性免疫系が機能していることが報告された。このマウスを用いて特に移植片対宿主病 graft versus host disease(以下 GVHD)生じる生体反応を検討した。ヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスでは体重減少や脱毛、円背などの全身状態不良の所見を認めなかったが、病理組織学的に皮膚真皮の肥厚が目立つ傾向にあった。臨床では皮膚硬化性病変が慢性 GVHD の診断的特徴とされており、今回の所見は慢性 GVHD の一症状を捕らえている可能性がある。今後皮膚以外の組織の検討や自己抗体測定の解析が必要と思われた。

[背景]

近年、ヒト免疫系の研究ツールとしてヒト免疫化マウスの重要性が高まっている。特に実験動物中央研究所で 2002 年に作製された重症免疫不全マウスモデル NOD/ SCID/ IL-2R γ null マウス(以下 NOG マウス)は、従来の免疫不全マウスと比較してヒト造血幹細胞移植時の生着が良好であり、ウイルス感染やアレルギー・自己免疫疾患の研究に役立ってきた、¹⁾ しかし、ヒト免疫化 NOG マウスには液性免疫系の機能が不十分であるという欠点がある。²⁾ 重症免疫不全マウス(HLA-DR4 Tg マウス)に HLA-DR4 陽性のヒト造血幹細胞を移植してヒト免疫化したマウスモデルでは液性免疫系が機能していることが報告され、ヒト免疫化 NOG マウスの欠点を補う新たなヒト免疫化マウスとして期待されている。³⁾

[目的]

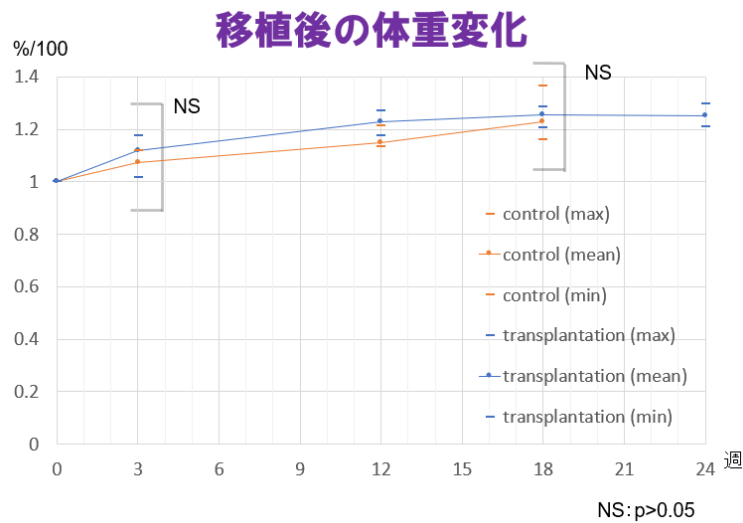
ヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスについて、造血幹細胞移植に関連する有害事象、特に移植片対宿主病 graft versus host disease(以下 GVHD)についてはまだ解明されておらず、今回の研究ではヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスに生じる生体反応を検討した。

[方法]

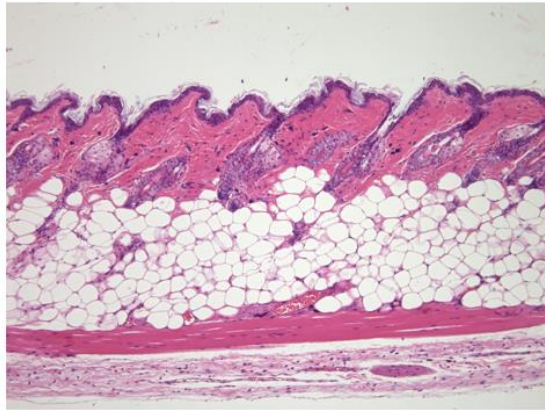
HLA-DR4 陽性凍結臍帯血を融解し、磁気細胞分離により CD34 陽性細胞を抽出した。生後 8 週の HLA-DR4 Tg マウスに尾静脈から投与した(1 頭あたり $2\sim3\times 10^5$ cells)。移植後、マウスの体重や全身状態を観察し、移植 26 週後に解剖した。各臓器(皮膚、脾臓、肺など)の組織標本を作製し、移植 MHC マウス 8 匹、非移植 MHC マウス 7 匹で比較・検討した。

[結果]

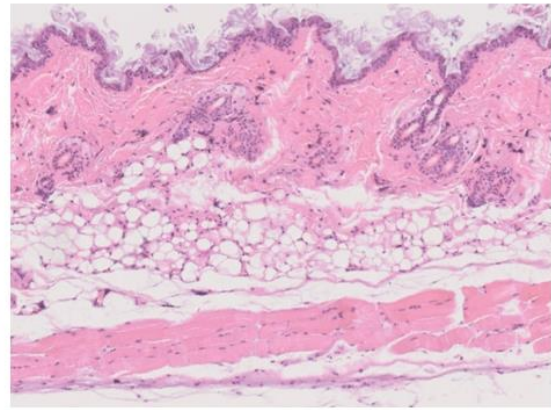
現状の報告ではあるが、ヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスでは体重減少や脱毛、円背などの全身状態不良の所見を認めなかった。



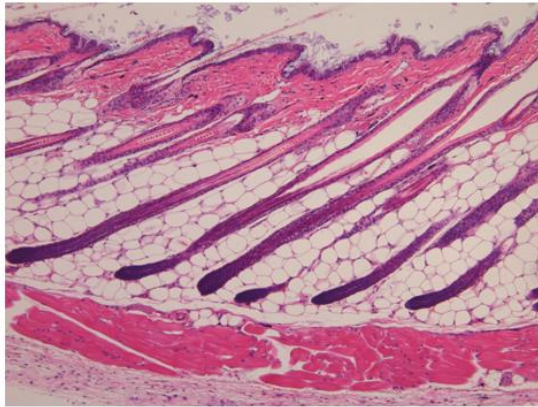
組織所見ではヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスで皮膚真皮の肥厚が目立つ傾向にあった。



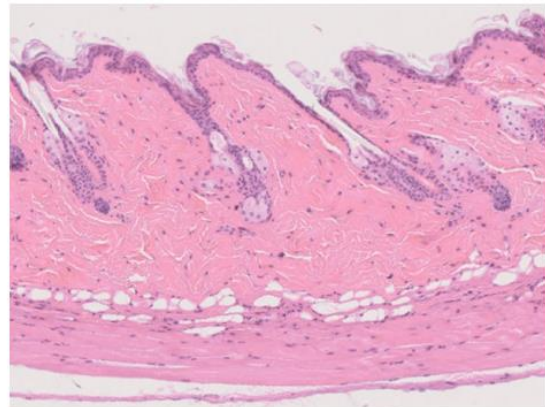
非移植マウス
(HE染色、×100倍)



移植マウス
(HE染色、×130倍)



非移植マウス
(HE染色、×100倍)



移植マウス
(HE染色、×130倍)

[考察]

ヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスでは体重減少や全身状態不良などの有害事象は見られなかったが、病理組織学的には皮膚真皮の肥厚が見られた。臨床では皮膚硬化性病変が慢性 GVHD の診断的特徴とされており、ヒト免疫化 MHC マウスに見られた皮膚病変は慢性 GVHD 所見を示していることが示唆される。ヒトの慢性 GVHD を証明したモデルマウスはまだ存在しないが、ヒト免疫化 HLA-DR4 Tg マウスがヒトの GVHD 反応を引き起こしていることが証明されれば慢性 GVHD の病態の解明につながる可能性がある。また、慢性 GVHD の線維化に関与すると言われているヒト抗 derived growth factor receptor(PDGFR α)抗体が証明されれば、このマウスの系がヒトの慢性 GVHD を表現していることが証明されると思われる。今後はこのモデルマウスについて皮膚以

外の臓器の組織所見や抗 PDGFR α 抗体を含めた自己抗体を解析する必要があると思われた。

[結論]

HLA-DR4 T_g マウスでの GVHD 反応を検討し、病理組織学的に皮膚真皮の肥厚がみられた。皮膚硬化性病変が慢性 GVHD の診断的特徴とされており、今後皮膚以外の組織の検討や GVHD に関与するといわれる抗 derived growth factor receptor(PDGFR α)抗体の解析が必要と思われた。

[参考文献]

- ¹⁾Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, Suzue K, Kawahata M, et al: NOD/SCID/gamma(c)(null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood*. 2002; 100: 3175-3182.
- 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 cnull mouse. *Int Immunol* 2012; 24: 243-252.