

## RESEARCH MODELS

# NSG<sup>®</sup>マウスを用いて腫瘍学および免疫腫瘍学の研究を進展させる

著者：

Grace E Berryhill, PhD  
Technical Information Scientist  
The Jackson Laboratory

## 要旨

より重度の免疫不全マウスを探求することは、数十年にわたる道のりであった。その目的は、ヒトの細胞や組織を移植するための最適なプラットフォームを確立することである (Shultz et al., 2007)。一連の免疫不全系統が作出され、その特性が明らかにされてきた。それらの系統は、さまざまな応用研究に使われてきたが、そのなかでも、最も重度の免疫不全を示すのは NOD. *Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ* (NSG<sup>®</sup>、JAX ストック番号 005557、チャールス・リバー系統コード 614) マウスである。このモデルマウスは、腫瘍学や免疫学から感染症や糖尿病の研究に至るまで、さまざまな研究領域において使用されてきた。本稿においては、このマウスの免疫不全の原因になっている構成要素、NSG<sup>®</sup>マウスの高品質な遺伝特性について記載する。とくに、重要な免疫腫瘍学研究のための PDX (患者由来腫瘍移植片) モデルおよびヒト化マウスに焦点を当てている。さらに繊細な研究ニーズに対応するために開発されてきた NSG<sup>®</sup>マウスの多くの変異系統についても強調している。

## モデルマウスの構成要素—NSG<sup>®</sup>マウスの免疫不全の要因

NSG<sup>®</sup>マウスにおける重度の免疫不全は、3つの要因によってもたらされる。この系統の背景である NOD (非肥満糖尿病)、自然突然変異である *Prkdc<sup>scid</sup>*、ならびに *Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>* のヌル対立遺伝子である。これら3つの要因のそれぞれについて、以下に詳細を記載する。

## NOD マウスの背景と自然免疫に関する考察

NOD マウスの重要な特性は、血中に溶血性の補体がないことである。これは、*Hc* 座における2塩基の欠失による。*Hc* 遺伝子は、補体の C5 タンパク質をコードするヒト遺伝子のオルソログである (Baxter and Cooke, 1993)。NOD マウスは、溶血性補体をうまく作り出すことができないので、自然免疫 (補体依存性の細胞傷害活性) に欠陥がある。他の多くの近交系マウスにおいては、このようなことはみられない。

NOD 近交系マウスには、そのほかにも、自然免疫機能に欠陥がみられる。NOD マウスのナチュラルキラー (NK) 細胞活性は、他の系統 (たとえば ICR マウス) に比べて、低下している (Kataoka et al., 1983)。また、マクロファージの機能も、糖尿病抵抗性の系統 (たとえば、NON マウスや SWR マウス) に比べて未熟である。すなわち、LPS に反応して産生されるサイトカインの量が少ない (Serreze et al., 1993)。さらに、NOD マウスにおいては、樹状細胞の抗原提示能の成熟に欠陥がみられる (Pearson et al., 2003)。

NOD マウスのもうひとつの重要な特性として、ユニークな *Sirpa* 対立遺伝子をもっていることが挙げられる。この遺伝子は、*SIRPA* タンパク質をコードしており、このタンパク質は、移植細胞上のヒト CD47 と相互作用して、抗貪食シグナルを伝える (Takenaka et al., 2007; Yamauchi et al., 2013)。このような特性のおかげで、NOD 近交系の背景をもつ系統においては、ヒト造血幹細胞 (HSC) の定着がきわめてよい。

EVERY STEP OF THE WAY

## 獲得免疫と *Prkdc<sup>scid</sup>* 変異

劣性自然突然変異 *Prkdc<sup>scid</sup>* によって、機能的な成熟 T 細胞および B 細胞が欠損する (Bosma et al., 1983)。この突然変異の分子レベルのメカニズムは、*Prkdc* 座における点突然変異である。その結果、早すぎる終止コドンが形成され、二重らせん DNA の切断修復が充分におこなわれなくなる。DNA の切断修復機能は、B 細胞や T 細胞の成熟過程において、V(D)J 組換えをうまくおこなうために必要である。*Prkdc<sup>scid</sup>* ホモ接合体は、異系統または異種の細胞や組織をより容易に受容するので、多くの研究に利用することができる有用なツールである。このマウスを利用するにあたって重要な考慮事項は、*Prkdc<sup>scid</sup>* ホモ接合体は、DNA の切断をうまく修復することができないので、放射線による DNA 障害や遺伝毒性物質に対する感受性が高いということである。

## IL2r $\gamma$ 鎖を介したサイトカインシグナル伝達

インターロイキン 2 受容体  $\gamma$ 鎖 (*Il2rg*) は、6 種類の異なるインターロイキン (IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21) からのシグナルを伝達する細胞表面受容体の共通サブユニットである (Cao et al., 1995)。NSG<sup>®</sup> マウスがもつ *Il2rg<sup>tmWjl</sup>* 対立遺伝子によって、*Il2rg* は完全に欠損するので、この共通受容体サブユニットを使うサイトカインのシグナル伝達は阻害される。この阻害による重要な結果は、IL-15 のシグナル伝達がおこなわれないことによる、NK 細胞の成熟の欠損である。これまで、NK 細胞が存在することによって、初代ヒト HSC の定着が妨げられることが主要な障壁となっていた。

結局のところ、NOD マウスの遺伝的背景が *Prkdc<sup>scid</sup>* および *Il2rg* ノックアウトの変異とあいまって、重度免疫不全マウスを作り出しているのだ。参考までに、NSG<sup>®</sup> マウスにおける免疫細胞数の概略を、正常な近交系マウス NOD/ShiLtJ と比較しながら表 1 に示す。

## 腫瘍学研究のための NSG<sup>®</sup> マウス

がんの研究におけるマウスモデルに関しては、物語のような歴史がある (Thomas et al., 2016)。ヌードマウスを含めて、より重度の免疫不全系統を開発することによって、異種動物の細胞株からヒト患者由来の移植片 (PDX) モデルに至るまで、広範囲にわたる腫瘍モデルを作製するための道が開かれてきた。実際、実験目的に合った最適の宿主系統を見つけるためには、移植する腫瘍組織の特性ならびに利用することができる宿主マウス系統の生物学的特

表1. 4週齢のマウス末梢血のフローサイトメトリー解析

Strain	Females		Males	
	NSG	NOD/ShiLtJ	NSG	NOD/ShiLtJ
% Single Cells of Total	95.02 +/- 5.73	95.44 +/- 3.35	79.79 +/- 9.43	87.48 +/- 4.94
% Viable Cells	25.96 +/- 6.77	43 +/- 9.93	32.86 +/- 5.87	67.8 +/- 2.06
% B cells of Viable	.04 +/- .11	25.24 +/- 6.34	.05 +/- .13	27.3 +/- 3.48
% NK Cells of Viable	.01 +/- .06	.14 +/- .05	.03 +/- .04	.27 +/- .04
% T Cells of Viable	.15 +/- .12	33.28 +/- 6	.49 +/- .49	32.46 +/- 3.67
% CD4+ of T Cells	4.97 +/- 6.86	70.28 +/- 1.78	.40 +/- 1.02	73.94 +/- 1.57
% CD4+ T Cells of Viable	.01 +/- .01	23.36 +/- 4.13	0.00 +/- 0.01	24.04 +/- 3.16
% CD8+ of T Cells	.00 +/- 0.00	26.4 +/- 3.88	.49 +/- 1.14	21.8 +/- 1.69
% CD8+ T Cells of Viable	0.00 +/- 0.00	8.9 +/- 2.36	0.00 +/- 0.00	7.06 +/- .77
% DN of T Cells	90.02 +/- 22.24	3.06 +/- 2.35	98.67 +/- 2.16	4.05 +/- 1.63
% DN T Cells of Viable	.14 +/- .11	.93 +/- .48	.48 +/- .48	1.29 +/- .43

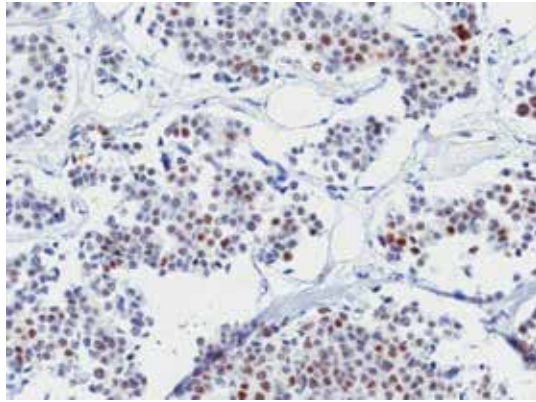
数値は平均±SD

性について注意深く考察しなければならない (Shultz et al., 2014)。

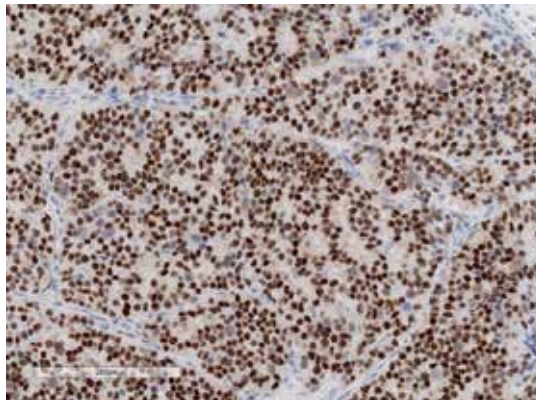
*Foxn1<sup>nu</sup>* 変異をもつ免疫不全系統 (ヌードマウスとよばれる) や NOD-*scid* などのようなより軽度の免疫不全マウスは、丈夫な異種腫瘍細胞株を移植するのに適した系統として利用されているものの、これらの系統は、一般的に、初代培養組織の移植には適していない。しかし、PDX を NSG<sup>®</sup> マウスに移植すれば、患者由来の初代培養腫瘍の特性がより忠実に再現される (Lin et al., 2013)。NSG<sup>®</sup> マウスの宿主としての有用性をさらに裏付ける事例として、次の例を記載する。ヒト大腸がんの初代培養組織を NSG<sup>®</sup> マウスに移植すると、生着率は約 90% であり、NOD-*scid* マウスとくらべて、組織の増殖もより安定していた (Maykel et al., 2014)。NSG<sup>®</sup> マウスにおいては、腫瘍組織を継代したとき、その構造の多様性がより完全に維持され、またエストラジオールを補充すると、エストロゲン受容体陽性の腫瘍の増殖を維持することもできた (図 1)。

図 1. 乳がん PDX モデル TM00386 におけるエストロゲン受容体の免疫組織化学染色

ヒト患者の腫瘍組織



継代 5 代目



エストラジオールを補充された NSG® マウスにおいては、複数回継代された乳がん PDX モデル TM00386 は、エストロゲン受容体陽性を維持している (免疫組織化学染色)。これまで、マウスモデルにおいては、エストロゲン受容体陽性腫瘍モデルの作製は困難であった。ヒト腫瘍組織を NSG® マウスに移植した場合は、ヒト患者のエストロゲン受容体陽性状態が維持されていたのである。ジャクソン研究所 PDX リソース (Jackson Laboratory PDX Resource) によって提供されている画像は、ヒト腫瘍のマウスモデル (Mouse Models of Human Cancer) データベースにも掲載されている。

NSG® マウスは、移植された固形腫瘍の研究をサポートするのみならず、*in vivo* における液性腫瘍の研究も促進する。重度の免疫不全マウス系統が開発されてきたにもかかわらず、ヒトの血液がんをマウスにおいて安定して増殖させることは、まだ十分に達成されていない。NSG® マウスの変異系統である NSG-SGM3 (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup> Tg(CMV-IL3,CSF2,KITLG)1Eav/MloySzJ、JAX ストック番号 013062) 系統の開発によって、その溝が埋められた。すなわち、ヒトの悪性血液疾患、とくに急性骨髄性白血病の

移植が効率よくおこなわれるようになったのである (Klco et al., 2014; Wunderlich et al., 2010)。このユニークな系統は、ヒト IL3、CSF2、および KITLG の発現を促進する導入遺伝子をもっているため、ヒト骨髄細胞系列の増殖をサポートする (Billerbeck et al., 2011)。

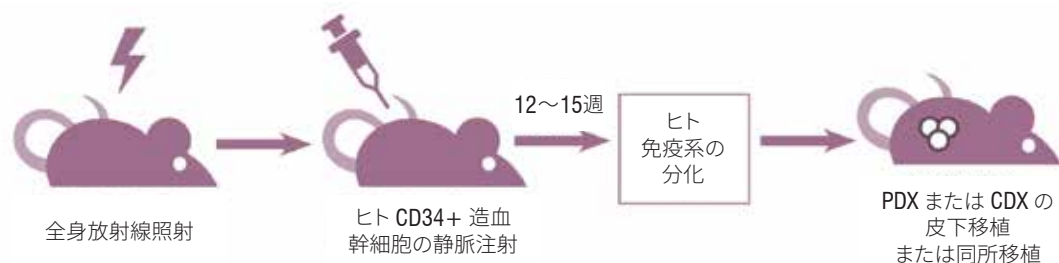
## NSG® マウスにおいてヒトと同じような免疫系をもつモデルを作製する

NSG® マウスのユニークな遺伝特性のおかげで、このマウス系統は、ヒト造血幹細胞 (HSC) またはヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を移植することによって、ヒト化免疫系を作製するためのすぐれた宿主となっている。文献には、ヒト化免疫系を作製するための多くの方法が記載されている (Todd Pearson et al., 2008)。その結果、ユニークな特性をもつ強力なマウスモデルが作製された。モデル系統を選択する際に重要な考慮事項は、これらのユニークなモデル系の機能を理解することである。さらに洗練された NSG® マウスの変異系統の開発が進められているので、ヒト化免疫系マウスを利用することによって、正確な疾患モデルの開発もさらに進むことであろう。

## CD34+ 造血幹細胞の移植によるヒト化免疫系の作製

NSG® マウスに移植された CD34+ ヒト造血幹細胞 (HSC) は、主要なすべてのタイプの免疫細胞に分化する。したがって、マウスにおいて、ヒトと同じような免疫系を研究するためのユニークなプラットフォームを提供する。宿主である NSG® マウスは、HSC を移植する前にあらかじめ処置を施される。すなわち、致死量以下の放射線を照射したり、ブスルファンのような薬剤で処理をしたりする。このような処置により、宿主の造血を抑え、移植した HSC が競争的に骨髄ニッチにホーミングしやすくなり、複数のヒト細胞系列が分化する。NSG® マウスは、Prkdc<sup>scid</sup> 変異によって、DNA 二重らせんの切断修復がうまくおこなわれないために、放射線や遺伝毒性物質による障害をより受けやすいことに注意することが肝要である。したがって、放射線照射量は注意深く設定しなければならない。実験の目的によって、放射線照射量を低く抑えたい場合は、NOD Rag $\gamma$  (NRG) マウス (NOD.Cg-Rag1<sup>tm1Mom</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ、JAX ストック番号 007799) を使用するほうがよいかもしれない。この変異系統は、Rag1 対立遺伝子をもっており、NSG® マウスと同様に、機能的に成熟した T 細胞および B 細胞の分化が起こらない。しかし、NRG マウスは、NSG® マウスとは異なり、DNA 切断修復の阻害ではなく、V(D)J 組換えにおけ

## CD34+ ヒト化マウス



る DNA の切断を阻害するので、放射線障害に対する抵抗性がより強い。ただし、NSG<sup>®</sup> マウスと同様に、ヒト化免疫系を構築することはできる (T. Pearson et al., 2008)。放射線照射装置を利用することができない研究者や致死量以下の放射線照射による副作用を避けたい研究者にとっては、NBSGW 変異系統 (NOD. Cg-Kit<sup>W-41J</sup> Tyr + Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/ThomJ、JAX ストック番号 026622) は興味深い系統であろう。この変異系統はマウス Kit 受容体座に自然発生ヌル変異をもっているため、移植したヒト HSC は、骨髄内において、内在性のマウス HSC よりも有利に競合する。したがって、NBSGW マウスにおいては、あらかじめ放射線照射をせずに、ヒト CD34+ HSC をマウスに生着させることができる (McIntosh et al., 2015)。

CD34+ HSC を移植した NSG<sup>®</sup> マウスにおいては、移植後 10 ~ 12 週で調べると、主要なすべてのタイプの免疫細胞が観察されるが (Todd Pearson et al., 2008)、ヒトの血中における割合と異なるタイプの免疫細胞もあるし、またヒトの免疫細胞の機能と異なるものもある。それぞれ特異的な機能をもつさまざまな免疫細胞の分化を促進する変異系統を探求するなかで、さまざまな特徴的な NSG<sup>®</sup> マウス変異系統がたくさん作出されてきた。たとえば、骨髄系の細胞の割合が多い系統を必要とする研究のためには、NSG-SGM3 系統が CD34+ HSC の移植に有用な宿主である (表 2)。この系統においては、全体的に、ヒト CD45+ 細胞の数が多く、骨髄系細胞も長期にわたって生存する。このことは、ヒトの IL3、CSF2、および KITL が発現していることによって支持される (Billerbeck et al., 2011)。CD34+ HSC を移植された NSG<sup>®</sup> マウスにおいては NK 細胞が存在するが、これらの NK 細胞の大部分は未成熟である (Strowig et al., 2010)。この溝を埋めるモデルマウスは、ヒト IL15 を発現する導入遺伝子をもつ NSG<sup>®</sup> 変異系統 (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup> Tg(IL15)1Sz/SzJ、JAX ストック番号 030890) である。この変異系統は、CD34+ HSC を移植された NSG<sup>®</sup> マウスにおいて、NK 細胞の増殖をサポートする (Brehm et al., 2018)。(表 3)

表 2. CD34+ ヒト造血幹細胞移植後12週における NSG<sup>®</sup>マウスとNSG-SGM3マウスの比較。

	NSG		NSG-SGM3	
	Mean	SEM	Mean	SEM
CD45+ (% cells)	39.43	1.31	70.98	2.40
CD3+ (% of CD45)	25.80	1.76	52.78	1.54
CD3+CD4+ (% of CD45)	13.02	1.17	39.80	1.55
CD3+CD8+ (% of CD45)	12.78	0.71	12.98	0.75
CD3+CD25+FoxP3+ (% of CD3)	3.98	0.38	35.99	1.87
CD19+ (% of CD45)	67.72	1.76	41.32	1.63
CD33+ (% of CD45)	1.03	0.06	3.18	0.34

1回の実験の平均とSEM  
n=20 NSG; n=9 NSG-SGM3

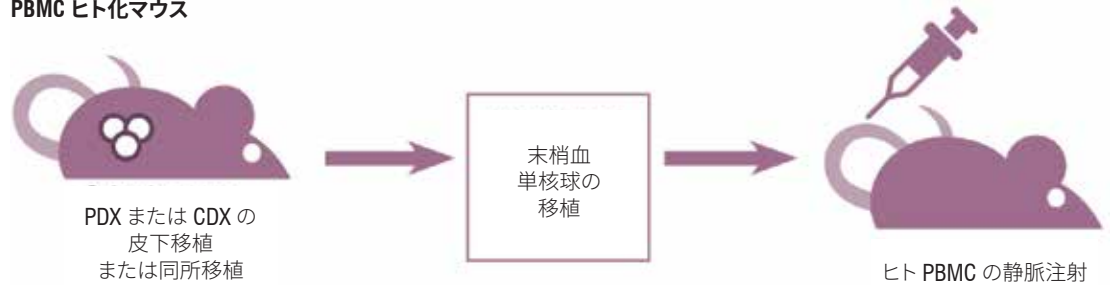
表 3. CD34+ ヒト造血幹細胞を移植した NSG<sup>®</sup>マウスとNSG-Tg(Hu-IL15)マウスの比較。

	NSG		NSG-Tg (Hu-IL15)	
	Mean	SEM	Mean	SEM
CD45+ (% Live)	48.75	4.36	41.83	3.12
CD3+ (% of CD45)	7.41	1.79	6.67	1.05
CD20+ (% of CD45)	70.35	2.97	58.16	1.84
CD4+ (% of CD3)	56.48	3.47	54.18	2.84
CD8+ (% of CD3)	29.27	3.55	30.36	2.56
CD33+ (% of CD45)	12.42	0.98	12.46	0.94
CD56+/CD16+ (% of CD45)	0.37	0.06	6.47	0.65

3回の実験の平均とSEM  
n=30 NSG; n=54 NSG-Tg(Hu-IL15)



## PBMC ヒト化マウス



### HLA 拘束性反応モデルの作製

CD34+ HSC を移植した NSG® マウスの生物学的機能の重要な側面は、分化するヒトの T 細胞がマウスの胸腺内において、マウスの MHC 分子に対して教育されるということである。これは有利な機能である。なぜなら、異種移植片による移植片対宿主病 (GVHD) を効果的に防ぐことができるからである。その結果、長期にわたって安定した移植モデルを作製することができる。それと並行して、実験によっては、ヒト HLA 拘束性 T 細胞反応モデルが必要になることもある。この必要性を満たすために、ヒト HLA クラス I およびクラス II を発現する、トランスジェニック NSG® 変異系統が作出された。実際に、HLA のマッチングした HSC を用いてヒト化した NSG-HLA-A2/HHd (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup> Tg(HLA-A/H2-D/B2M)1Dvs/SzJ、JAX ストック番号 014570) マウスの脾臓から分離された細胞傷害性記憶エフェクター T 細胞は、エプスタイン・バー・ウイルス感染後に、HLA クラス I 拘束性の細胞傷害活性を示した (Shultz et al., 2010)。HLA-A2 を発現している別の HLA クラス I トランスジェニック NSG® 系統として、NOD.Cg-Mcp1Tg(HLA-A2.1)1EngE Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ (JAX ストック番号 009617) という系統もある。また、NOD.Cg-Rag1<sup>tm1Mom</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup> Tg(HLA-DRA,HLA-DRB1\*0401)39-2Kito/ScasJ (JAX ストック番号 017914) のような HLA クラス II トランスジェニック NSG® 変異系統も開発されており、さまざまな実験のために使われている。たとえば、HLA のマッチングした HSC を用いてヒト化したマウスにおいて B 細胞機能を増強する研究などである (Danner et al., 2011)。

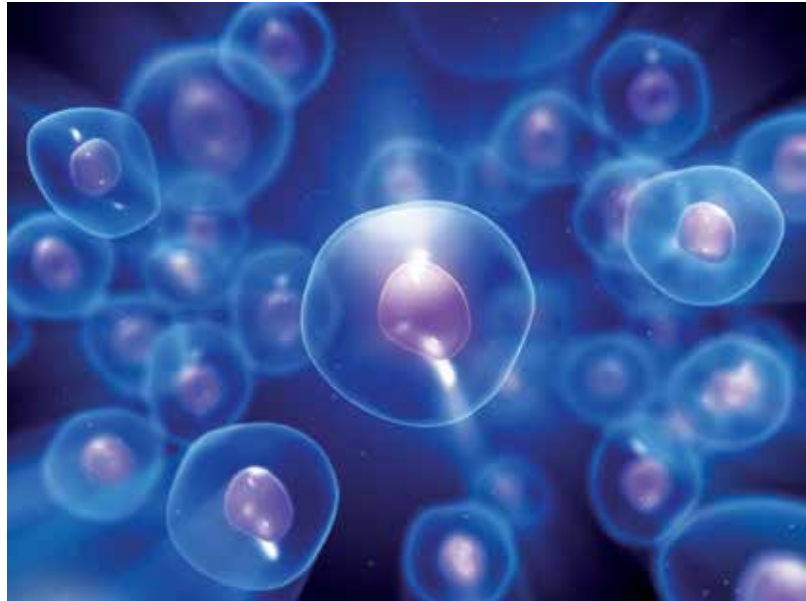
### PBMC の移植によるヒト化免疫系の作製

NSG® マウスあるいはその変異系統に、成人ドナーから分離した末梢血単核細胞 (PBMC) を移植する方法もまた、マウスにおいて、ヒトと同様な免疫系を研究するための強

力なシステムである (Todd Pearson et al., 2008)。移植は短期間でおこなうことができ、作製されたプラットフォームは、T 細胞応答の短期的な研究に十分に耐えるものである (Walsh et al., 2017)。いくつかの理由により、この PBMC モデルは、CD34+ ヒト造血幹細胞 (HSC) 移植モデルとは異なる。重要なことは、(PBMC モデルにおいては) 移植されるヒト T 細胞は、ヒトの胸腺内において教育されているので、異種間における移植片対宿主病 (GVHD) が起こるということである。すなわち、全身の組織においてヒト T 細胞の浸潤がみられ、体重減少、貧血、あるいは死といった臨床徴候がみられる (King et al., 2009)。PBMC モデルは、このような特性をもっているため、GVHD を研究するための有用なツールになっている。このモデルにおける GVHD の発病時期は、ヒトの GVHD 治療薬を用いて調整することができる。たとえば、King らは、TNF α のデコイ受容体を用いて、GVHD の発病時期を遅らせることができることを示した (King et al., 2009)。GVHD の発病時期と重症度は、PBMC ドナーと細胞数によって決まるので、大規模な実験をおこなう前には、ドナーによって GVHD の病期がどのように変わるのかを注意深く観察することが必要である (King et al., 2009)。MHC クラス I 遺伝子を破壊された NSG® 変異系統 (NOD.Cg-B2m<sup>tm1Unc</sup> Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ、JAX ストック番号 010636)、ならびに MHC クラス I および II 遺伝子を破壊された NSG® 変異系統 (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> H2-Ab1<sup>em1Mvw</sup> H2-K1<sup>tm1Bpe</sup> H2-D1<sup>tm1Bpe</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ、JAX ストック番号 025216) においては、ヒト PBMC 移植後に GVHD を起こさないので、長期間にわたってモデル実験をおこなうことができ、GVHD のメカニズムを研究するためのプラットフォームを提供する (Brehm et al., 2019; King et al., 2009)。

### 免疫腫瘍学のためのヒト化マウス

がんに対する免疫機能を活性化させる治療薬の開発は、がん治療における有望な戦略である。新たな治療薬の開



発を進展させるためには、前臨床試験のためのモデルの開発がきわめて重要である。前臨床試験において、実験処置による免疫調整効果を調べるためには、ヒトの免疫細胞をもつ NSG<sup>®</sup> マウスやその変異系統にヒトの腫瘍を移植する方法が強力なツールを提供する。実際、CD34+ ヒト造血幹細胞 (HSC) を移植したヒト化 NSG<sup>®</sup> マウスにヒト患者由来の肺がん、肉腫、膀胱がん、乳がん組織、あるいは乳がん細胞株を移植した後に、PD-1 阻害薬ペムブロリズマブで処置をすると、腫瘍の増殖が抑制された (Wang et al., 2018)。ペムブロリズマブに対する反応性は、HSC ドナーによってまちまちであった。このことは、前臨床試験においては、治療群ごとに複数のドナーから得られた HSC を利用することが重要であることを示している (Wang et al., 2018)。別の実験において、HSC を移植したヒト化 NSG<sup>®</sup> マウスにヒトメラノーマ細胞株 MK-4166 を移植した後に、共刺激分子 GITR に対する抗体で処置をすると、腫瘍の増殖が抑制された。また、腫瘍組織内の制御性 T 細胞の数は減少し、CD8+ T 細胞の数は増加していた。この結果は、同系モデルシステムにおいて観察されていたことを反映している (Mahne et al., 2017)。

また、ヒト化 NSG<sup>®</sup> マウスは、キメラ抗原受容体 T 細胞 (CAR-T) や二重特異性 T 細胞 (BiTE) を用いた抗腫瘍 T 細胞活性を評価するための有用なプラットフォームであることも示されている。Jin らの研究において、CD70 CAR-T は、IL-8 に対する受容体を発現するように改変された。腫瘍組織内においては IL-8 の発現が増加しており、また放射線照

射によっても増加するので、腫瘍組織内における CAR-T の遊走が増強するからである。この改変された CAR-T 細胞は、あらかじめ局部放射線照射を施した、NRG マウス (NOD.Cg-Rag1<sup>tm1Mom</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ、JAX ストック番号 007799) または NSG-B2m マウス (NOD.Cg-B2m<sup>tm1Unc</sup> Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ、JAX ストック番号 010636) に、U87 グリオーマ細胞、PANC-1 膵臓がん細胞、あるいは SK-OV-3 卵巣がん細胞を移植した後に投与された (Jin et al., 2019)。処置を施されたマウスにおいては、腫瘍組織内への CAR-T 細胞の遊走が増加しており、腫瘍のサイズも小さくなっていた (Jin et al., 2019)。別の実験においては、細胞内腫瘍マーカー WT1 を発現していることが知られている血液がんを移植した NSG<sup>®</sup> マウスにおいて、BiTE の効果が調べられた。このマウスにおいては、腫瘍マーカーのエピトープが MHC クラス I 分子である HLA-A2 と関連して細胞表面上に発現している (Dao et al., 2017)。Dao らは、エプスタイン・バー・ウイルスに特異的なヒト T 細胞をエフェクター細胞として同時に移植して、WT1 に対する BiTE の効果を証明した (Dao et al., 2015)。マウス MHC I および II のヌル変異をもつ NSG<sup>®</sup> 変異系統 (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> H2-Ab1<sup>em1Mvw</sup> H2-K1<sup>tm1Bpe</sup> H2-D1<sup>tm1Bpe</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ、JAX ストック番号 025216) を利用することによって、さらに免疫腫瘍学の研究に寄与することができるであろう。この変異系統においては、成熟したヒト T 細胞と移植された PBMC が存在しているものの、GVHD は有意に遅延する。

実験プロトコールを含めた、ヒト化 NSG<sup>®</sup> マウスの作製

に関するさらなる情報については、ジャクソン研究所のウェブサイトをご参照ください。

## 遺伝的品質の維持

近交系のモデルマウスをうまく利用するうえできわめて重要なことは、モデルマウス自体の遺伝的品質を入念かつ積極的に維持することである。ジャクソン研究所において、きわめてよく使われている系統の多くは、NSG<sup>®</sup> マウスを含めて、時間とともに起こる遺伝的浮動の累積影響を減少させるように設計されたプロトコルを使って、注意深く管理されている。遺伝的浮動とは、時間の経過とともに、ゲノムがたえず変化する傾向と定義することができる (Zeldovich, 2017)。遺伝的浮動によって起こる変異の蓄積は、異なる研究室で維持されている近交系コロニーのあいだにおいて、遺伝子型および表現型の乖離をもたらすことがある。その結果、最終的に、データのばらつきや実験の再現性のなさがひき起こされることがある。ジャクソン研究所において利用されている「遺伝的安定性プログラム (Genetic Stability Program: GSP)」とよばれるプロトコルは、2009 年および 2012 年、米国特許庁から特許を得ている (それぞれ、米国特許 7,592,501 および 8,110,721)。このプログラムの中心は、GSP を利用して維持している、血統の明らかな創始繁殖コロニーは、5 世代ごとに、凍結胚プールから再導出されているということである (Taft et al., 2006)。



## 欧州および日本のチャールス・リバー社において繁殖している JAX<sup>™</sup>マウス

ジャクソン研究所およびチャールス・リバー社は、欧州、日本、韓国、および台湾の医学生物学研究者に、それぞれの地域において、JAX<sup>™</sup>マウスを供給するための共同契約を結んでいる。チャールス・リバー社は、ジャクソン研究所の繁殖プロトコルならびに遺伝的品質管理ガイドラインを厳格に順守しながら、ジャクソン研究所で繁殖された JAX<sup>™</sup>マウスと同等の遺伝的品質のマウスを欧州および日本において繁殖している。NSG<sup>®</sup> および NRG の両系統は、欧州のチャールス・リバー社において繁殖されている。本論文に記載されているすべての NSG<sup>®</sup> 変異系統は、チャールス・リバー社をとおして輸入することができる。さらなる情報については、[www.criver.com/jaxmice](http://www.criver.com/jaxmice) を参照ください。



## 結論

NSG<sup>®</sup> マウスを利用した最先端のがん研究は、モデルが開発されて以来、飛躍的な進歩をとげてきた。時間がたつにつれて、NSG<sup>®</sup> マウスモデルは、医学生物学研究において最も引用されている免疫不全動物になっている。実験系がたえず洗練され、NSG<sup>®</sup> 変異系統がますます増加するのにもなると、まちがいがなく、腫瘍学の基礎研究および橋渡し研究のさらなる発展の道が開かれることであろう。

## 文献

- Baxter, A.G., Cooke, A., 1993. Complement lytic activity has no role in the pathogenesis of autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes* 42, 1574–1578. <https://doi.org/10.2337/diab.42.11.1574>
- Billerbeck, E., Barry, W.T., Mu, K., Dorner, M., Rice, C.M., Ploss, A., 2011. Development of human CD4+FoxP3+ regulatory T cells in human stem cell factor-, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-, and interleukin-3-expressing NOD-SCID IL2Rγ(null) humanised mice. *Blood* 117, 3076–3086. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-301507>
- Bosma, G.C., Custer, R.P., Bosma, M.J., 1983. A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. *Nature* 301, 527–530. <https://doi.org/10.1038/301527a0>
- Brehm, M.A., Aryee, K.-E., Bruzenksi, L., Greiner, D.L., Shultz, L.D., Keck, J., 2018. Transgenic expression of human IL15 in NOD-scid IL2rgnull (NSG) mice enhances the development and survival of functional human NK cells. *J. Immunol.* 200.
- Brehm, M.A., Jouvet, N., Greiner, D.L., Shultz, L.D., 2013. Humanised mice for the study of infectious diseases. *Curr. Opin. Immunol.* 25, 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2013.05.012>
- Brehm, M.A., Kenney, L.L., Wiles, M.V., Low, B.E., Tisch, R.M., Burzenski, L., Mueller, C., Greiner, D.L., Shultz, L.D., 2019. Lack of acute xenogeneic graft-versus-host disease, but retention of T-cell function following engraftment of human peripheral blood mononuclear cells in NSG mice deficient in MHC class I and II expression. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 33, 3137–3151. <https://doi.org/10.1096/fj.201800636R>
- Cao, X., Shores, E.W., Hu-Li, J., Anver, M.R., Kelsall, B.L., Russell, S.M., Drago, J., Noguchi, M., Grinberg, A., Bloom, E.T., 1995. Defective lymphoid development in mice lacking expression of the common cytokine receptor gamma chain. *Immunity* 2, 223–238. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90047-0](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90047-0)
- Danner, R., Chaudhari, S.N., Rosenberger, J., Surls, J., Richie, T.L., Brumeau, T.-D., Casares, S., 2011. Expression of HLA class II molecules in humanised NOD.Rag1KO.IL2RgckO mice is critical for development and function of human T and B cells. *PLoS One* 6, e19826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019826>
- Dao, T., Korontsvit, T., Zakhaleva, V., Jarvis, C., Mondello, P., Oh, C., Scheinberg, D.A., 2017. An immunogenic WT1-derived peptide that induces T cell response in the context of HLA-A\*02:01 and HLA-A\*24:02 molecules. *Oncoimmunology* 6, e1252895. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1252895>
- Dao, T., Pankov, D., Scott, A., Korontsvit, T., Zakhaleva, V., Xu, Y., Xiang, J., Yan, S., de Moraes Guerreiro, M.D., Veomett, N., Dubrovsky, L., Curcio, M., Doubrovina, E., Ponomarev, V., Liu, C., O'Reilly, R.J., Scheinberg, D.A., 2015. Therapeutic bispecific T-cell engager antibody targeting the intracellular oncoprotein WT1. *Nat. Biotechnol.* 33, 1079–1086. <https://doi.org/10.1038/nbt.3349>
- Jin, L., Tao, H., Karachi, A., Long, Y., Hou, A.Y., Na, M., Dyson, K.A., Grippin, A.J., Deleyrolle, L.P., Zhang, W., Rajon, D.A., Wang, Q.J., Yang, J.C., Kresak, J.L., Sayour, E.J., Rahman, M., Bova, F.J., Lin, Z., Mitchell, D.A., Huang, J., 2019. CXCR1- or CXCR2-modified CAR T cells co-opt IL-8 for maximal antitumor efficacy in solid tumors. *Nat. Commun.* 10, 4016. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11869-4>
- Kataoka, S., Satoh, J., Fujiya, H., Toyota, T., Suzuki, R., Itoh, K., Kumagai, K., 1983. Immunologic aspects of the nonobese diabetic (NOD) mouse. Abnormalities of cellular immunity. *Diabetes* 32, 247–253. <https://doi.org/10.2337/diab.32.3.247>
- King, M.A., Covassin, L., Brehm, M.A., Racki, W., Pearson, T., Leif, J., Laning, J., Fodor, W., Foreman, O., Burzenski, L., Chase, T.H., Gott, B., Rossini, A.A., Bortell, R., Shultz, L.D., Greiner, D.L., 2009. Human peripheral blood leucocyte non-obese diabetic-severe combined immunodeficiency interleukin-2 receptor gamma chain gene mouse model of xenogeneic graft-versus-host-like disease and the role of host major histocompatibility complex. *Clin. Exp. Immunol.* 157, 104–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03933.x>
- Klco, J.M., Spencer, D.H., Miller, C.A., Griffith, M., Lamprecht, T.L., O'Laughlin, M., Fronick, C., Magrini, V., Demeter, R.T., Fulton, R.S., Eades, W.C., Link, D.C., Graubert, T.A., Walter, M.J., Mardis, E.R., Dipersio, J.F., Wilson, R.K., Ley, T.J., 2014. Functional heterogeneity of genetically defined subclones in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 25, 379–392. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.031>
- Lin, T.-Y., Li, Y.-P., Zhang, H., Luo, J., Goodwin, N., Gao, T., White, R. de V., Lam, K.S., Pan, C.-X., 2013. Tumor-targeting multifunctional micelles for imaging and chemotherapy of advanced bladder cancer. *Nanomed.* 8, 1239–1251. <https://doi.org/10.2217/nnm.12.150>
- Mahne, A.E., Mauze, S., Joyce-Shaikh, B., Xia, J., Bowman, E.P., Beebe, A.M., Cua, D.J., Jain, R., 2017. Dual Roles for Regulatory T-cell Depletion and Costimulatory Signaling in Agonistic GITR Targeting for Tumor Immunotherapy. *Cancer Res.* 77, 1108–1118. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0797>
- Maykel, J., Liu, J.H., Li, H., Shultz, L.D., Greiner, D.L., Houghton, J., 2014. NOD-scidll2rg (tm1Wjl) and NOD-Rag1 (null) ll2rg (tm1Wjl) : a model for stromal cell-tumor cell interaction for human colon cancer. *Dig. Dis. Sci.* 59, 1169–1179. <https://doi.org/10.1007/s10620-014-3168-5>
- McIntosh, B.E., Brown, M.E., Duffin, B.M., Maufort, J.P., Vereide, D.T., Slukvin, I.I., Thomson, J.A., 2015. Nonirradiated NOD.B6.SCID ll2ry-/- Kit(W41/W41) (NBSGW) mice support multilineage engraftment of human hematopoietic cells. *Stem Cell Rep.* 4, 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.12.005>
- Pearson, Todd, Greiner, D.L., Shultz, L.D., 2008. Creation of “humanised” mice to study human immunity. *Curr. Protoc. Immunol.* Chapter 15, Unit 15.21. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1521s81>



- Pearson, T., Markees, T.G., Serreze, D.V., Pierce, M.A., Marron, M.P., Wicker, L.S., Peterson, L.B., Shultz, L.D., Mordes, J.P., Rossini, A.A., Greiner, D.L., 2003. Genetic disassociation of autoimmunity and resistance to costimulation blockade-induced transplantation tolerance in nonobese diabetic mice. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 171, 185–195. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.1.185>
- Pearson, T., Shultz, L.D., Miller, D., King, M., Laning, J., Fodor, W., Cuthbert, A., Burzenski, L., Gott, B., Lyons, B., Foreman, O., Rossini, A.A., Greiner, D.L., 2008. Non-obese diabetic-recombination activating gene-1 (NOD-Rag1 null) interleukin (IL)-2 receptor common gamma chain (IL2r gamma null) null mice: a radioresistant model for human lymphohaematopoietic engraftment. *Clin. Exp. Immunol.* 154, 270–284. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03753.x>
- Serreze, D.V., Gaedeke, J.W., Leiter, E.H., 1993. Hematopoietic stem-cell defects underlying abnormal macrophage development and maturation in NOD/Lt mice: defective regulation of cytokine receptors and protein kinase C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 9625–9629. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.20.9625>
- Shultz, L.D., Brehm, M.A., Bavari, S., Greiner, D.L., 2011. Humanised mice as a preclinical tool for infectious disease and biomedical research. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1245, 50–54. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06310.x>
- Shultz, L.D., Goodwin, N., Ishikawa, F., Hosur, V., Lyons, B.L., Greiner, D.L., 2014. Human cancer growth and therapy in immunodeficient mouse models. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2014, 694–708. <https://doi.org/10.1101/pdb.top073585>
- Shultz, L.D., Ishikawa, F., Greiner, D.L., 2007. Humanised mice in translational biomedical research. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 118–130. <https://doi.org/10.1038/nri2017>
- Shultz, L.D., Saito, Y., Najima, Y., Tanaka, S., Ochi, T., Tomizawa, M., Doi, T., Sone, A., Suzuki, N., Fujiwara, H., Yasukawa, M., Ishikawa, F., 2010. Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r gamma(null) humanised mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 13022–13027. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000475107>
- Skelton, J.K., Ortega-Prieto, A.M., Dorner, M., 2018. A Hitchhiker's guide to humanised mice: new pathways to studying viral infections. *Immunology* 154, 50–61. <https://doi.org/10.1111/imm.12906>
- Strowig, T., Chijioke, O., Carrega, P., Arrey, F., Meixlsperger, S., Ramer, P.C., Ferlazzo, G., Munz, C., 2010. Human NK cells of mice with reconstituted human immune system components require preactivation to acquire functional competence. *Blood* 116, 4158–4167. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-270678>
- Taft, R.A., Davissou, M., Wiles, M.V., 2006. Know thy mouse. *Trends Genet.* TIG 22, 649–653. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2006.09.010>
- Takenaka, K., Prasolava, T.K., Wang, J.C.Y., Mortin-Toth, S.M., Khalouei, S., Gan, O.I., Dick, J.E., Danska, J.S., 2007. Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells. *Nat. Immunol.* 8, 1313–1323. <https://doi.org/10.1038/ni1527>
- Thomas, R.M., Van Dyke, T., Merlino, G., Day, C.-P., 2016. Concepts in Cancer Modeling: A Brief History. *Cancer Res.* 76, 5921–5925. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1293>
- Walsh, N.C., Kenney, L.L., Jangalwe, S., Aryee, K.-E., Greiner, D.L., Brehm, M.A., Shultz, L.D., 2017. Humanised Mouse Models of Clinical Disease. *Annu. Rev. Pathol.* 12, 187–215. <https://doi.org/10.1146/annurevpathol-052016-100332>
- Wang, M., Yao, L.-C., Cheng, M., Cai, D., Martinek, J., Pan, C.-X., Shi, W., Ma, A.-H., De Vere White, R.W., Airhart, S., Liu, E.T., Banchemreau, J., Brehm, M.A., Greiner, D.L., Shultz, L.D., Palucka, K., Keck, J.G., 2018. Humanised mice in studying efficacy and mechanisms of PD-1-targeted cancer immunotherapy. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 32, 1537–1549. <https://doi.org/10.1096/fj.201700740R>
- Wunderlich, M., Chou, F.-S., Link, K.A., Mizukawa, B., Perry, R.L., Carroll, M., Mulloy, J.C., 2010. AML xenograft efficiency is significantly improved in NOD/SCID-IL2RG mice constitutively expressing human SCF, GM-CSF and IL-3. *Leukemia* 24, 1785–1788. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.158>
- Yamauchi, T., Takenaka, K., Urata, S., Shima, T., Kikushige, Y., Tokuyama, T., Iwamoto, C., Nishihara, M., Iwasaki, H., Miyamoto, T., Honma, N., Nakao, M., Matozaki, T., Akashi, K., 2013. Polymorphic Sirpa is the genetic determinant for NOD-based mouse lines to achieve efficient human cell engraftment. *Blood* 121, 1316–1325. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-440354>
- Zeldovich, L., 2017. Genetic drift: the ghost in the genome. *Lab Anim.* 46, 255–257. <https://doi.org/10.1038/labani.1275>

翻訳：順天堂大学国際教養学部 久原 孝俊