

JAX® MICE, CLINICAL AND RESEARCH SERVICES

# オンコ-Hu™ モデル： がん免疫研究のための ヒト化 NSG™ および NSG™-SGM3 マウス

## 要旨

ヒトの免疫細胞と腫瘍のあいだにおける相互作用を理解することは、がんに対する治療戦略を考案するにあたって、きわめて重要である。そのような治療戦略によって、がん細胞が免疫細胞による攻撃を回避することを防いだり、(がん細胞に対する)細胞傷害反応を高めたりすることができるのである。NSG™\*およびNSG™-SGM3\*マウスは、ヒトの腫瘍を移植するための宿主として有用であり、またヒトの造血幹細胞を移植した後に、ヒトの免疫系を確立するための宿主として有用であることが示されている。本論文において、われわれは、ヒト造血幹細胞を移植したNSGおよびNSG-SGM3マウス(本論文においては、両系統をあわせて、「ヒト化NSGマウス」とよぶ)が、異系統のヒト腫瘍の生着を維持する能力を有する証拠を示す。ヒト化NSGマウスの体内に移植されたヒト腫瘍は、標準的な化学療法、標的療法、ならびに免疫チェックポイント阻害薬に反応した。免疫チェックポイント阻害薬は、腫瘍に対する(免疫細胞の)細胞傷害活性を高めることが臨床的に示されている。腫瘍を移植されたヒト化NSGマウス(オンコ-Hu™\*マウス：現在は、ジャクソン研究所のみから供給されている)は、がん免疫研究の前臨床試験における、新たな、そして有用なプラットフォームとなる。

THE JACKSON LABORATORY

\*NSG、NSG-SGM3、ならびにオンコ-Hu (Onco-Hu) は、ジャクソン研究所の登録商標である。

翻訳：順天堂大学国際教養学部 久原 孝俊 (くはら たかし)



Leading the search  
for tomorrow's cures

## 目次

がん免疫学：患者をケアするための新たなパラダイム	3
腫瘍は免疫による攻撃を回避する	3
開発中の新たな治療法	6
新たな治療法の開発における課題	8
NSG マウスおよび NSG-SGM3 マウスのニーズに応える	9
オンコ-Hu：ヒト化 NSG マウスおよびヒト化 NSG-SGM3 マウスは	
HLA 非適合のヒト腫瘍を生着させる	14
オンコ-Hu マウスに移植したヒト腫瘍は治療に反応する	15
ヒト化マウス（オンコ-Hu）と PDX 腫瘍を評価する	18
新たな免疫療法を利用して有効性試験を実施する	19
文献	20
ノート	23

## がん免疫学： 患者をケアするための 新たなパラダイム

がん治療に対するこれまでのアプローチにおいては、広範囲に作用する化学物質が利用されてきた。そのような化学物質は、分裂のさかんな細胞に対して毒性を有している。このような化学療法は有効である場合があるものの、腫瘍細胞以外に対する毒性に起因するさまざまな合併症をひき起こす。また、薬剤耐性をひき起こすリスクも存在する。標的療法が標準的な治療法 (standard-of-care: SOC) として新たに開発されている。しかし、この標的療法においても、しばしば治療に対する耐性がみられ、さらなる改善が求められている。哺乳類の免疫系は、きわめて高い特異性を有しており、病原体に感染した細胞やがん細胞を効率的に排除するメカニズムをもっている。それ (哺乳類の免疫系) に対応して、腫瘍は免疫系による検出を回避するための一連の独自のメカニズムを発達させてきた。

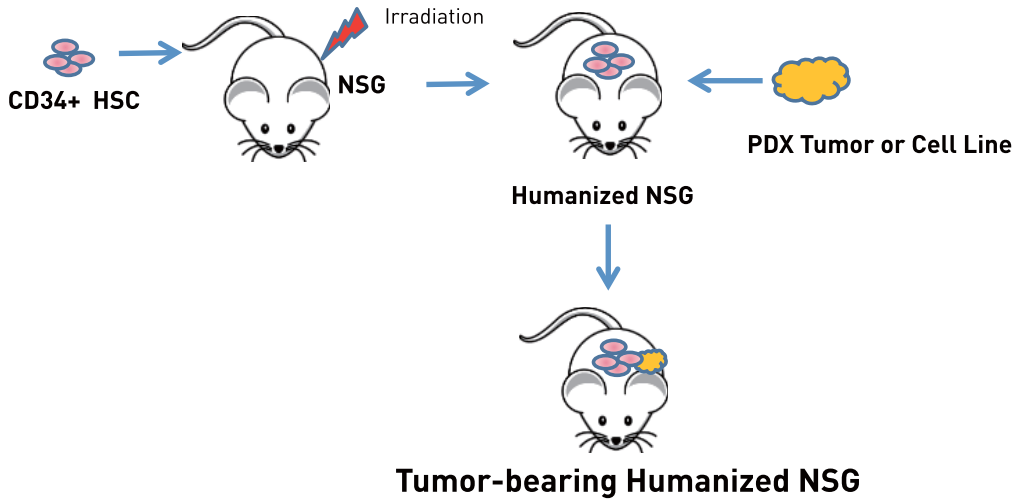
さいわい、研究者たちは、免疫効果細胞と腫瘍のあいだの相互作用に関するより深い理解をすることができるようになりつつある。現在、新たな有望な治療戦略が臨床的に使われ始めている。そのような新たな治療戦略によって、長期間にわたって、免疫が介在する腫瘍の退縮をひき起こすことができる。これらの新たながん免疫療法戦略は、きわめて有望であるものの、かならずしも、すべてのがんに広範囲に効果を発揮するわけではない。ヒト化された小動物モデルを用いた試験プラットフォームがあれば、がん免疫にもとづいた治療法を改善するための研究が促進されるであろう。そのような試験プラットフォームによって、科学者は、ヒト免疫細胞と腫瘍細胞のあいだの相互作用についてより深く理解することができるようになり、臨床応

用により適した新たな治療法の前臨床試験が可能となるであろう。本論文においては、われわれは、腫瘍が免疫細胞による排除を回避するメカニズム、現在臨床において試されている免疫療法、そして現時点で利用することができるマウスモデルを用いた新たな治療法開発の限界について概説する。重要なことは、われわれが新たなマウスプラットフォーム—オンコ-Hu—の有用性を示していることである。オンコ-Huマウスを用いることによって、患者由来の異種移植片 (PDX) であるヒト腫瘍に関して、がん免疫療法の前臨床試験において、ヒト化免疫系という観点から研究をおこなうことができるようになるのである (図1.)。ヒト化NSGマウス (NSGおよびNSG-SGM3両宿主が含まれる) は、PDX腫瘍の増殖を支え、SOC治療法に反応し、さらに免疫チェックポイント阻害薬を用いた治療後に免疫介在性の腫瘍の退縮もみられた。これらの研究結果は、ヒト化NSGマウスを利用することによって、新たながん免疫療法の前臨床試験を人間の臨床応用へ橋渡しすることが可能であることを支持している。

## 腫瘍は免疫による 攻撃を回避する

免疫系は、抗腫瘍療法に対する応答性および抵抗性における主要な調節要因である。多くの初期段階の腫瘍は、宿主の免疫細胞によって殺滅されると考えられている。免疫系は、腫瘍細胞の表面に発現しているユニークな抗原を認識して、がん細胞を殺す。免疫細胞が関与するか否かは、多くの場合、腫瘍のタイプおよび分子署名 (記注: 分子署名とは、ある細胞に特徴的な網羅的な遺伝子の発現様式のこと。マイクロアレイなどを用いて決定される。) によって決まる (Coffelt and de Visser, 2015)。実際に、進行がんの患者から得られた腫瘍サンプルの中には、しばしば、がん細胞以外にヒト免疫効果細胞が含まれ

これらの研究結果は、ヒト化 NSG マウスおよびヒト化 NSG-SGM3 マウスを利用することによって、新たながん免疫療法の前臨床試験を人間の臨床応用へ橋渡しすることが可能であることを支持している。



**図1. オンコ-Hu: がん免疫研究のための革新的なマウスプラットフォーム**

担癌ヒト化 NSG マウス。致死量未満の放射線を照射した3週齢の免疫不全 NSG マウスまたは NSG-SGM3 マウスに CD34+造血幹細胞を静脈内注射した。15 週齢の時点において、末梢血中にヒト白血球 (T 細胞を含む) が定着していることを確認した後に、マウスに患者由来の異種移植片 (PDX) であるヒト腫瘍または腫瘍細胞株を移植した。腫瘍が希望する大きさに増殖した後すぐに、がん免疫の実験を開始した。

ている。そのような細胞集団のひとつとして、腫瘍浸潤リンパ球 (tumor infiltrating lymphocyte: TIL) がある。通常、TILはCD8+細胞傷害性T細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) である。TILを腫瘍から分離して、*ex vivo*で増殖させ、そして増殖させたTILを患者に再び養子移入して、腫瘍特異的な殺滅作用を巧みに利用することができる (Restifo *et al.*, 2012)。養子免疫療法は、転移性のメラノーマ患者の治療において成功した例が報告されており (Rosenberg *et al.*, 2011)、さらに一般的な上皮性腫瘍においても成功した例が報告されている (Rosenberg and Restifo, 2015)。しかし養子免疫療法は、かならずしも普遍的に腫瘍を殺滅することができるわけではない。養子細胞移入の前と後において、腫瘍殺滅活性がなくなる原因については、複数の免疫抑制モードによって説明することができる。

TILの抑制においては、2つの免疫抑制経路が示されている。これらの2つの免疫抑制経路は、細胞傷害性Tリンパ球抗原-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4: CTLA-4) およびプログラム死-1 (programmed death 1: PD-1) によって媒介される (Ahmadzadeh *et al.*, 2009; Baitsch *et al.*, 2011)。これらの2つの免疫抑制

経路は、「チェックポイント」経路として知られている。なぜなら、これら2つの免疫抑制経路は、正常な条件下において、免疫寛容の破綻を防いでいるからである。CTLA-4に結合するヒトモノクローナル抗体ヤーボイ (イピリムマブ) およびトレメリムマブが開発されている。これらのモノクローナル抗体は、細胞傷害性T細胞が抗原提示細胞上のCD80やCD86と相互作用することを妨げることによって、T細胞に対する抑制シグナルを阻害する。現在、一般的に考えられていることは、CTLA-4がブロックされることによって、CD80やCD86がCD28と結合するようになり、その結果、重要なT細胞共刺激経路が活性化されるということである。イピリムマブおよびトレメリムマブは、メラノーマ治療のための治療に応用された最初の「チェックポイント阻害薬」である (Pardoll, 2012)。これら2つのモノクローナル抗体は、一部の患者において、生存期間を延長した。これらの事実によって、広範囲にわたって、腫瘍を標的とした他の自然免疫系を活性化する方法を探索することへの好奇心が刺激されたのである。

PD-1およびそのリガンドであるPD-L1も重要なチェックポイント経路である。PD-1チェックポイント経路を操作して、CTL介在性の腫

瘍の破壊を促進することがおこなわれてきた (Ostrand-Rosenberg *et al.*, 2014; Pauken and Wherry, 2015)。PD-1を遮断する抗体の開発が3つの重要な論文によって加速された：PD-1のヌル変異（機能喪失型突然変異）を有するマウスは、自己免疫症候群を発症する (Nishimura *et al.*, 1999)；TILはPD-1を上方に調節する（応答能を増大させる）ことによって、その結果、アネルギー状態になる (Ahmadzadeh *et al.*, 2009)；多くのタイプの腫瘍は、PD-L1を発現している (Zou *et al.*, 2008)。初期の治験においては、抗CTLA-4抗体治療に抵抗性の進行性メラノーマ患者の28%が抗PD-1モノクローナル抗体に反応した (Hamid *et al.*, 2013)。さらに、抗PD-1チェックポイント阻害薬（モノクローナル抗体）と抗CTLA-4チェックポイント阻害薬（モノクローナル抗体）を併用すると、53%の患者において良好な結果がみられた (Wolchok *et al.*, 2013)。抗CTLA-4抗体や抗PD-1抗体などのような免疫調節経路を阻害する免疫療法は、がん治療において新たな時代を開いたのである (Coffey and de Visser, 2015)。2015年12月の時点において、20以上の抗PD-1/PD-L1抗体が治験において使われている (Gandini *et al.*, 2016)。実際には、2016年現在、米国市場において、2つの抗PD-1チェックポイント阻害薬が承認されている：すなわち、プレンプロリズマブ（キートルーダ）およびニボルマブ（オプジーボ）である。現在、これら2つの抗PD-1チェックポイント阻害薬は治験に使われて

おり、さまざまなタイプの腫瘍に対する有効性試験がおこなわれている。CTLA-4とPD-1は、それぞれ異なる抑制経路を調節するので、どちらかを単味で投与するより、同時にこれら2つの阻害薬を併用したほうが、治療効果上がるようである (Sharma and Allison, 2015)。

また、腫瘍は他のメカニズムを使って、免疫応答を回避する。たとえば、激しい炎症反応を起こしている、腫瘍のミクロ環境には、組織常在型マクロファージや末梢血単球が動員される。これらの骨髄性細胞は、腫瘍由来のシグナルを受け取り、その結果、遺伝子発現や表現型が変化する (Gabrilovich *et al.*, 2012 and Ostuni *et al.*, 2015)。腫瘍内で成熟する、そのような骨髄性細胞亜集団のひとつに腫瘍随伴マクロファージ (tumor-associated macrophage: TAM) がある。TAMは、固形腫瘍内に多く見られる白血球集団である。多くの場合、TAMは腫瘍の進行を制限するのではなく、むしろ刺激する (Ostuni *et al.*, 2015)。TAMはTILの活性を抑制し、表1.に示すメカニズムによって、腫瘍の血管新生を促進させる。すなわち、腫瘍にとって快適なミクロ環境をつくり出し、その結果、腫瘍の増大を促進するのである。またTAMは、制御性T細胞 (T<sub>reg</sub>) および2型ヘルパーT (T<sub>H</sub>2) 細胞を動員、刺激することによって、腫瘍内において強い免疫抑制作用を発揮する。これらの細胞は、通常、免疫寛容の維持にかかわっている。

表1. 腫瘍随伴マクロファージ (TAM) による免疫抑制

TAM Phenotype	Effect
Increased PD-L1	Suppressed CTL activation
Increased IL-10	Stimulation of T <sub>H</sub> 2 cells
Decreased IL-12	Suppression of T cells
Increased CCL22	Attraction of T <sub>reg</sub> cells
Increased Tek (TIE2)	Increased angiogenesis



表2. 骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) による免疫抑制

MDSC Phenotype	Effect
Increased ARG1 & NOS2 (iNOS)	Suppressed CTL activation; TCR down-regulation; decreased proliferation
Increased Reactive Oxygen Species (ROS)	Suppressed CTL activation; TCR down-regulation; decreased IL-2R signaling
Increased ADAM17	Decreased CD62L on CD4 & CD8 T cells; impaired lymph node trafficking
Co-stimulation & Soluble factors	Activation and expansion of T <sub>Reg</sub> cells

腫瘍内に見られるその他の骨髄性細胞として、骨髄由来免疫抑制細胞 (myeloid-derived suppressor cell: MDSC) がある。MDSCは、異なる細胞集団から成る未成熟な細胞である。MDSCには、マクロファージ、顆粒球、および樹状細胞の前駆細胞が含まれている。MDSCは、T細胞の分裂を抑制し、そして血管新生を促進する能力を有する (Coffelt and de Visser, 2015)。表2.に示されているように、MDSCは、さまざまな免疫抑制メカニズムを利用して、腫瘍が免疫を回避するのを助けている。MDSCの大部分の作用機序は、T細胞を抑制することにもとづいている。

がん免疫において重要な、その他の免疫細胞集団として、樹状細胞 (dendritic cell: DC) およびナチュラルキラー (natural killer: NK) 細胞がある。DCは、「プロフェッショナル抗原提示細胞」と考えられており、ユニークな腫瘍特異抗原を処理して、T細胞およびB細胞を活性化する能力をもっている。したがって、DCは、腫瘍ワクチン開発のための研究の中心であり、さらに、*ex vivo*で腫瘍特異的CTLを増殖させ、それらのCTLを養子免疫療法に応用するための研究の中心でもある (Palucka *et al.*, 2012)。NK細胞は、ユニークな細胞表面レセプターをもっており、自己組織に対する免疫学的監視において重要な役割を果たしている。NK細胞の活性は、大部分の正常細胞ならびに腫瘍の表面に発現しているHLAクラス I 抗原提示分子と結合することによって媒

介される。HLAクラス I 抗原を発現している腫瘍は、NK細胞媒介性の細胞傷害を回避する。しかし、HLAクラス I 抗原を失った腫瘍は、もはやNK細胞によって「自己」としては認識されないため、NK細胞によって殺滅される。NK細胞の活性化を促進する化合物、ならびに異系統のNK細胞を利用した養子免疫を促進する化合物は、前臨床研究および臨床研究において、活発な領域である (Vivier *et al.*, 2012)。

## 開発中の 新たな治療法

以上の記載からわかるように、免疫細胞の機能ならびに免疫細胞と腫瘍細胞のあいだの相互作用に関するわれわれの知識は増大しつつある。このような相互作用の根拠となる基本的なメカニズムを解明することによって、いくつかの可能性のある戦略が発見されてきた。そのような戦略をとおして、免疫細胞を操作することによって、抗腫瘍活性を強めることができるのである。きわめて有望な戦略の例を表3.に示す。

表3. 新たながん免疫療法への現在のアプローチ

<b>Monoclonal Antibodies</b>	Block ligands & receptors between cells
	Bind receptors to activate pathways
	Target cells for destruction by ADCC
	Antibody-drug conjugates
<b>Bispecific T-cell Engager (BiTE) Antibodies</b>	Promotion of T cell killing of target
<b>Chimeric Antigen Receptors (CARs)</b>	Promotion of T or NK cell killing of target
<b>Adoptive Cell Transfer</b>	Tumor infiltrating lymphocytes (TIL)
	TCR gene therapy
	Allogeneic donor lymphocyte infusion (DLI)
	Allogeneic NK cell infusion
	Antigen loaded dendritic cells
<b>Vaccination</b>	Tumor-specific antigen stimulation

たとえば、モノクローナル抗体は、細胞間におけるリガンドとレセプターの相互作用をブロックしたり増進したりすることができる。また、モノクローナル抗体は、作動薬あるいは拮抗薬として作用させたり、抗体依存性細胞傷害作用 (antibody-dependent cellular cytotoxicity: ADCC) によって標的細胞を破壊させたり、さらには、(モノクローナル抗体に) 結合させた薬剤を特異的な標的細胞に送達させたりすることもできる。二重特異性T細胞エンゲージャー (Bispecific T-cell Engager: BiTE) 療法とよばれる治療法がある。BiTE療法においては、2種類の抗体の抗原結合特異領域をひとつの分子に融合した領域を利用する。この融合分子は、直接、CTLを腫瘍細胞上の抗原に結合させることによって、腫瘍の殺滅を促進する (Stone, *et al.*, 2012 and Laszlo *et al.*, 2014)。

さらに、リンパ球を遺伝子操作して、従来のT細胞レセプターあるいはキメラの抗原レセプター (chimeric antigen receptor: CAR) を発現させることができるようになったことにより、養子細胞移入免疫療法の応用が大きく広がった (Rosenberg and Restifo, 2015)。CAR T細胞療法は、きわめて魅力的かつ強力な技

術であり、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration: FDA) は、CAR T細胞療法を「2014年の画期的治療法」に指定した。CARは、抗体の抗原認識部位をT細胞レセプターの膜貫通シグナル伝達ドメインに結合した分子によって構成されている。患者から分離したT細胞にCARを発現させて、がん関連抗原を認識するCARを患者の血流の中に戻すことができる。そのようなCAR T細胞は、腫瘍の大きさを減少させ、患者の生存期間を延長させることができる。CAR T細胞療法は、CD19陽性白血病やリンパ腫の治療において、大きな進歩をみせた。これらの白血病やリンパ腫は、これまで、他のすべての化学療法に抵抗性を示していた (Dai, *et al.*, 2016)。今後、CAR療法をさらに発展させるためには、固形腫瘍の治療、NK細胞にCARを発現させること、そしてチェックポイント阻害薬との併用などが大きな課題である (Beavis *et al.*, 2015, Vanneman and Dranoff, 2012, Rezvani *et al.*, 2015, and John *et al.* 2013)。

異系統 (すなわち、非適合) ドナーリンパ球移入 (donor lymphocyte infusion: DLI) は、移植片対腫瘍反応をひき起こす。DLIによって、多くの白血病患者の治療が効果的におこな

われてきた。異系統NK細胞を用いて、同様のアプローチが試されている (Vivier *et al.*, 2012)。腫瘍特異抗原に関する知識が蓄積するのにもなって、腫瘍抗原ペプチドを使って樹状細胞 (DC) を感作させる試みがおこなわれている。すなわち、養子免疫移入の前に、DCの適応免疫応答を刺激させる試みである。あるいはまた、腫瘍特異抗原を可能性のあるワクチンとして、直接注射することもできるであろう。そのようなワクチンは、内因性の腫瘍特異的T細胞応答を増幅するであろう (Miller and Sadelain, 2015)。これらすべての新たなアプローチは、その作用メカニズム、有効性、および安全性を評価するために、人間において試験を実施する前に、適切な *in vivo* の前臨床評価が必要である。

## 新たな治療法の開発 における課題

実験用マウスは、*in vivo*における免疫と腫瘍の相互作用について研究するためのすぐれたプラットフォームのひとつである。マウスを使って、新たな治療法の試験をおこなうことができる。免疫機能の正常なマウスを遺伝子操作して、自然発生腫瘍を形成させることができる。あるいは、同系統のドナーマウスから得られた腫瘍または腫瘍細胞株を移植することもできる。マウス遺伝学、マウス免疫学、そしてマウスの体内における腫瘍増殖は、ヒトのそれらと多くの共通点がある。しかし、両者のあいだには明らかな違いも存在する。たとえば、ヒトとマウスのあいだにおいては、末梢血リンパ球の分布が異なるし、また好中球は、自然免疫においても獲得免疫においても、刺激に対する反応性が異なる (Mestas and Hughes, 2004)。マウスにおいては、一般的に、MDSCの免疫抑制機能は弱く、形態的には多形核白血球に属する。ヒトにおいては、一般的に、MDSCの免疫抑制機能は強く、形態的には単核白血球に属する (Gabrilovich *et al.*,

2012)。腫瘍発生の病因論も、ヒトとマウスにおいて、かならずしも同じではない (Rangarajan and Weinberg, 2003)。

さらに、ヒトとマウスのあいだにおいては、レセプター-リガンドのホモロジーやアフィニティーが異なる。その結果、マウスにおいて効果がみられた薬剤が、かならずしもヒト臨床において同様の効果を示すとはかぎらない。また、近交系マウスは遺伝的に均一であるので、薬剤特異性や治療の再現性に関して、科学的有用性がきわめて高いと言える。それに対して、ヒトの遺伝的多様性は大きい。ヒトの遺伝的多様性が大きいことによって、薬剤の効果が薄められることがあるし、前臨床試験において見つからなかった、予期しない毒性が発見されることもある。場合によっては、マウスを用いて開発された治療法は、よりヒトに特異的なシステムを用いて、再度見直しをおこなう必要に迫られたり、再度試験をおこなう必要に迫られたりすることもある。そのような見直しは、費用もかかり、また時間もかかる作業である。

マウスを用いた新たながん免疫療法における課題を克服するために、ジャクソン研究所の研究者たちは、NSG (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ, 005557) とよばれる高度免疫不全マウスを利用した。NSGマウスにおいては、ヒト造血幹細胞が生着・分化することができるので、ヒト免疫系のさまざまな局面の機能を調べることができる ([jax.org/humanized-mice](http://jax.org/humanized-mice))。



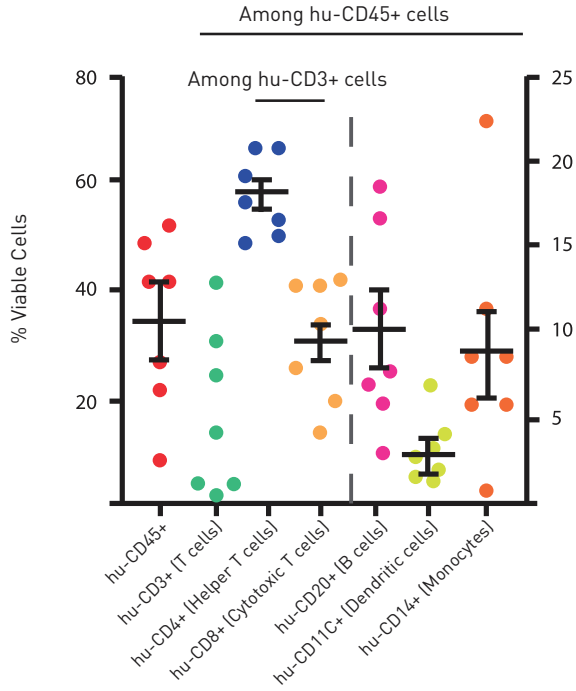
さらに、JAX *In Vivo*ファーマコロジー・サービス (JAX *In Vivo* Pharmacology Services) は、最近、ヒト化マウスモデルを拡張し、新たに NSG マウスの変異体 NSG-SGM3 (NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup>Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>Tg (CMV-IL3, CSF2, KITLG) 1Eav/MloySzJ, 013062) が加わった。NSG-SGM3マウスは、NSGマウスに次の3つのヒト造血サイトカインを発現させたマウスである。すなわち、幹細胞因子 (stem cell factor: SCF) : Steel Factor/Kit Ligandともよばれる ; 顆粒球単球コロニー刺激因子 (granulocyte/macrophage-stimulating factor: GM-CSF) ; およびインターロイキン3 (IL-3) である。これら3つのサイトカインは、ヒトサイトメガロウイルスのプロモーター/エンハンサーによって発現される。トリプル・トランスジェニックマウスであるNSG-SGM3マウスは、2-4 ng/ml (血清濃度) のヒトSCF、GM-CSF、およびIL-3を構成的に産生する。その結果、細胞に増殖および生存シグナルを与える。時間の経過とともに、これら3つのサイトカインの量はさらに増加する。NSG-SGM3マウスは、CD33+骨髄細胞系列およびいくつかのタイプのリンパ系細胞を安定して生着させる。その結果、NSG-SGM3マウスは、他の既存のマウスモデルと比較して、多様な造血系細胞をより安定して生着させることができる。

NSGマウスおよびNSG-SGM3マウスともに、ヒト免疫細胞およびさまざまなヒトPDX腫瘍を同時に一動物の中に生着させることができる。われわれは、ヒト化免疫系の環境の中で増殖させたPDX腫瘍が、標準的な化学療法および免疫チェックポイント阻害薬キートルーダ (プレンプロリズマブ) に反応することを示す。このことは、ヒト化NSGマウスは、ヒト特異的がん免疫療法の前臨床試験のための新たなプラットフォームになることを示している。

## NSGマウスおよび NSG-SGM3マウス のニーズに応える

ジャクソン研究所においては、ヒト化マウスを次のようにして作製している。最初に、3-4週齢のNSG (Hu-CD34-NSG™) マウスまたはNSG-SGM3 (Hu-CD34-NSG™-SGM3) マウスに致死量未満の放射線を照射する。つぎに、臍帯血から分離したヒトCD34+HSCを尾静脈に注射する。12週間後に、ヒト末梢血 (peripheral blood: PBL) が生着していることを確認する。NSGマウスの体内には、複数の系列の免疫細胞が生着し、ヒト免疫細胞がほとんどすべての適切な器官や組織—たとえば、宿主の骨髄、胸腺、脾臓、ならびにPBL—にホーミングした (図2. および表4. 参照 ; Ishikawa *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2012)。

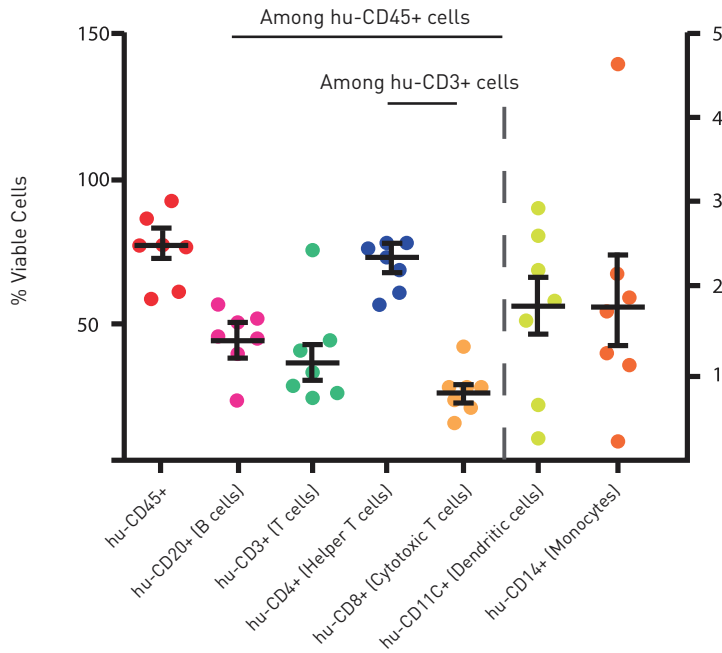
**A. Bone Marrow**



**図2. ヒト化CD34+NSGマウスは、B細胞、T細胞、樹状細胞、および単球を含む複数の系列のヒト細胞の生着を支持する**

ヒト造血幹細胞を移入したNSGマウスは、きわめて強固な生着効率を示す。ヒト白血球に特異的なマーカーを用いてフローサイトメトリーをおこなった。[A] 骨髄中の生きたヒト細胞のパーセント、および[B] 脾臓中の生きたヒト細胞のパーセント。JAX® *In Vivo*ファーマコロジー・サービスのデータ。

**B. Spleen**



**表4. Hu-CD34-NSGマウスにおける複数のヒト系列細胞の生着**

ジャクソン研究所JAX® *In Vivo*ファーマコロジー・サービスのデータ。

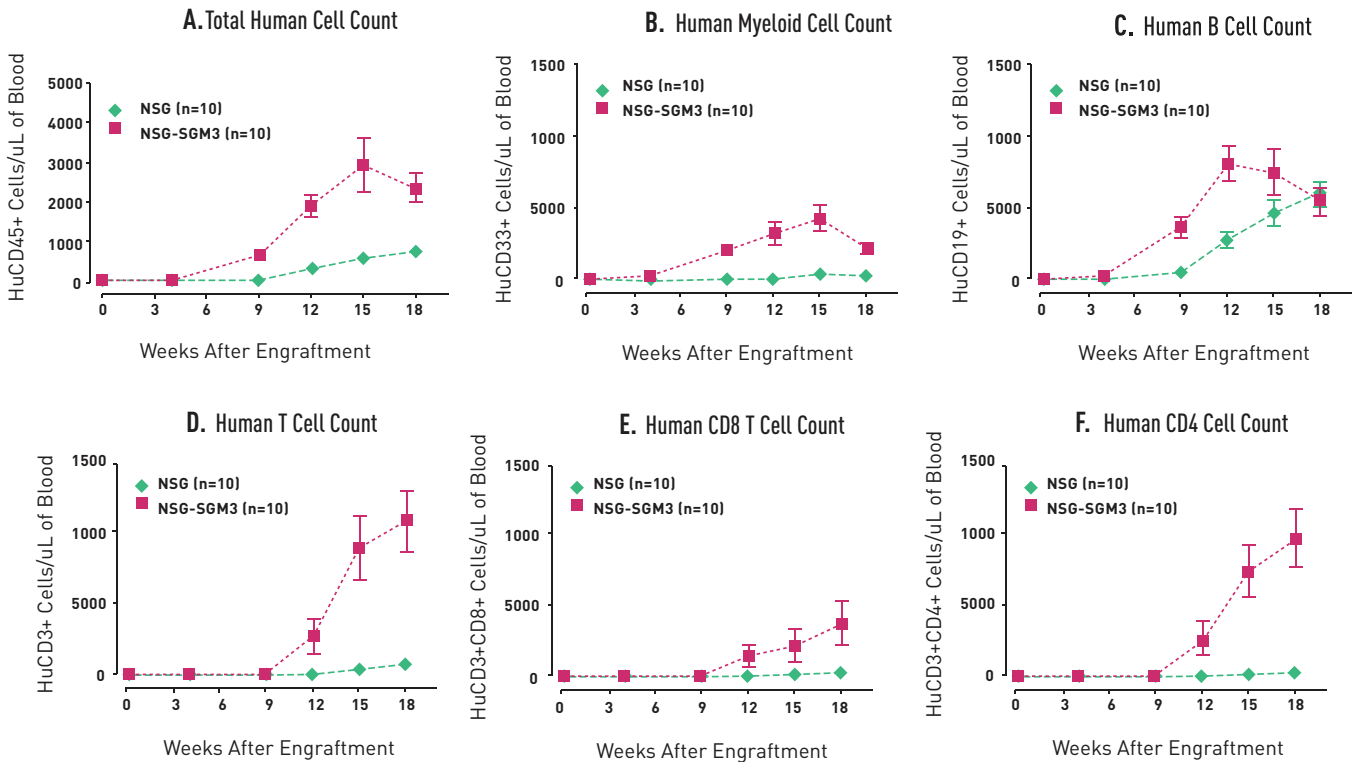
Myeloid Cells	Lymphoid Cells
Macrophages	CD4+ & CD8+ T cells
Monocytes	T <sub>Reg</sub>
Neutrophils	B cells
Basophils	NK cells
Mast cells	
Erythroid progenitors	

ヒト化NSG™マウスモデルに比較して、ヒト化NSG™-SGM3マウスにおいては、次のヒト免疫細胞集団の数が増加していた（図3.参照；Wunderlich *et al.*, 2010; Billerbeck *et al.*, 2011）。

- CD33+骨髄性細胞
- 造血幹細胞
- 骨髄性前駆細胞
- T細胞（CD3+）
- ヘルパーT細胞（CD4+）
- 細胞傷害性T細胞（CD8+）
- 制御性T細胞（CD4+, CD25+, FoxP3+）

**図3. NSGマウスおよびNSG-SGM3マウスの末梢血中の細胞数の比較（細胞数/μL）**

[A] ヒトCD45+ドナー細胞総数、[B] ヒトCD33+骨髄性細胞総数、[C] ヒトCD19+B細胞総数、[D] ヒトCD3+T細胞総数、[E] ヒトCD3+CD8+T細胞総数、[F] ヒトCD3+CD4+T細胞総数。ジャクソン研究所 JAX® *In Vivo*ファーマコロジー・サービスのデータ。



## T細胞

ヒト免疫細胞の分化に加えて、Hu-CD34-NSGマウスの機能についても評価した。とくに、Hu-CD34-NSGマウスの骨髄で産生された未熟なヒトT細胞前駆細胞（CD4+ CD8+ダブルポジティブ細胞）が、成熟したCD4+またはCD8+シングルポジティブT細胞とともに胸腺内で見られた（Ishikawa *et al.*, 2005）。成熟したCD4+ヘルパーT細胞およびCD8+CTLは、やがて胸腺を離れて、末梢血および脾臓に定着する。これらの結果をまとめると、これらのT細胞に関しては、胸腺内においてTCRの選択（自己と非自己）がおこなわれ、その後、適切な組織にホーミングすることが示された。

ヒトT細胞の細胞傷害活性を確かめるために、ヒト化マウスの脾臓からT細胞を採取した。採取したT細胞を、異系統の標的細胞の存在下において、*ex vivo*でクローン増殖させた。その後、異系統の標的細胞を用いて、クロム遊離細胞傷害アッセイをおこなった（Ishikawa *et al.*, 2005）。CD4+T細胞は、クラスII抗原とともに標的を認識した。CD8+T細胞は、クラスI抗原とともに標的を認識した。これは、正常な成熟ヒトT細胞における場合と同様な反応であった。

また、Hu-CD34-NSGマウスは、遅延型過敏反応（delayed-type hypersensitivity: DTH）も示した。DTHもまた、T細胞機能の現われである。このDTHアッセイにおいては、ジニトロフルオロベンゼン（DNBF）を2回腹部に塗布することによって、Hu-CD34-NSGマウスを感作した。そして1週間後に、マウスの耳介にDNBFを局所塗布することによってチャレンジした。*In vivo*における、T細胞媒介性の炎症反応を評価するために、耳介の腫脹を測定した。さらに、このDTHは、ヒドロコルチゾンによってブロックすることができた（JAX *In*

*Vivo*ファーマコロジー・サービス；データは示していない）。

## B細胞

T細胞の機能に加えて、Hu-CD34-NSGマウスのB細胞の機能についても調べた。Hu-CD34-NSGマウスをオボアルブミンで免疫し、抗体産生能を調べた。ヒト化NSGマウス体内のヒトB細胞は、抗原（オボアルブミン）に反応して、オボアルブミン特異的なIgMを産生した。IgGの産生は、ごくわずかであった（Ishikawa *et al.*, 2005）。このマウスプラットフォームの現状における限界は、抹消リンパ節内のヒト細胞数が少ないことと胚中心の発達が乏しいことである。抹消リンパ節内リンパ球および胚中心は、記憶B細胞およびプラズマ細胞が作られるために必要である。これらがないと、IgMからIgGへの免疫グロブリンクラススイッチが十分に起こらない。さらにNSGマウスは、補体成分C5を欠損している。溶血性の補体活性を欠損することによって、NSGマウスは、ヒト細胞をより生着させやすくなるものの、補体依存性の細胞傷害反応（complement dependent cytotoxicity: CDC）が起こらない。CDCは、標的細胞に抗体が結合することによって引き起こされる反応である。

## 骨髄性細胞

またHu-CD34-NSGマウスは、あらゆるタイプの骨髄細胞系列を分化させる。そして、それらの骨髄性細胞は、機能活性を有している（Tanaka *et al.*, 2012）。ヒト化NSGマウスの骨髄および肺から分離したヒトマクロファージは、蛍光標識ピーズを貪食する能力を有し、そしてインターフェロン $\gamma$ （INF- $\gamma$ ）で刺激すると、ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）を殺滅する。マクロファージは、トール様受容体（Toll-like receptor: TLR）を介して、細

菌のリポ多糖体 (LPS) に対して炎症反応を起こす。Hu-CD34-NSGマウス体内のヒト単球/マクロファージは、TLR2およびTLR4を発現している。Hu-CD34-NSGマウスをLPSで刺激すると、マウスの血漿中にさまざまな炎症性分子が検出される。これは、*in vivo*において、骨髄性細胞が機能していることを示している (Tanaka *et al.*, 2012)。

好中球は、骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) に分化することによって、自然免疫および腫瘍生物学において重要な役割を果たしている。CD15+, CD33 low, およびHLA-DR-マーカーによって特徴づけられるヒト好中球の割合は、Hu-CD34-NSGマウスの骨髄ではヒト細胞の35%、そして脾臓ではヒト細胞の1-5%を占めている (Tanaka *et al.*, 2012)。ヒトCD66b+好中球の割合は、PBLの中で1%に満たないが、*in vivo*において顆粒球コロニー刺激因子で処理すると、2.6%に増加する (Coughlin *et al.*, 2012)。CD63マーカーは、好中球のアズール顆粒に発現されている。ヒト化マウス体内のヒト好中球をLPSで処理すると、CD63の発現が増加する。このことは、LPSには脱顆粒活性があることを示している。またLPSは、呼吸応答を亢進させ、ヒト好中球を肺に蓄積させる。これは、細菌性敗血症と同様の症状である。これらの研究結果は、Hu-CD34-NSGマウス体内のヒト好中球が機能を有していることを示している。

## ナチュラルキラー (NK) 細胞

最後に、Hu-CD34-NSGマウスは、CD3-NKp46+NK細胞をもっている。NK細胞の割合は、ヒト化NSGマウスの脾臓または肺において、それぞれ、ヒト細胞の1-3%または7%であった (Strowig *et al.*, 2010)。これらのNK細胞の大部分は、未熟なNKp46+CD56-細胞であった。しかし、これらの未熟なNK細胞をイン

ターロイキン15 (IL-15) で処理すると、成熟したNKp46+CD56+NK細胞に分化させることができた。Hu-CD34-NSGマウスの脾臓から分離したヒトNK細胞は、*in vitro*でIL-15処理をして、K562細胞を標的として加えると、脱顆粒して、IFN- $\gamma$ を産生する。K562は、ヒトの赤白血病細胞株であり、NK細胞の認識分子であるNCR、KKG2D、およびDNAMを発現している。これらのデータは、ヒト化NSGマウスは、NK細胞をつくることができ、さらに、それらのNK細胞は活性化して、非自己と認識された細胞を攻撃することを示している。

Hu-CD34-NSGマウスにおいて、さまざまなヒト免疫系が機能していることが報告されていることを考慮すると、皮下に移植した、HLA非適合のヒトPDX腫瘍は迅速に拒絶されるであろうと推察された。しかし、上に述べたように、腫瘍が免疫を回避するさまざまなメカニズムが存在することが多くの論文において報告されてきた。次に示すデータは、Hu-CD34-NSGマウスがヒト腫瘍細胞株および多様性のあるヒトPDX腫瘍—これらの腫瘍細胞株や腫瘍は、NSGマウスをヒト化するために使われた造血ドナー細胞のHLAとは適合しないのであるが—を効率よく生着させることを明確に示している。



## オンコ-Hu : ヒト化NSGマウス およびヒト化 NSG-SGM3マウスは HLA非適合のヒト腫瘍 を生着させる

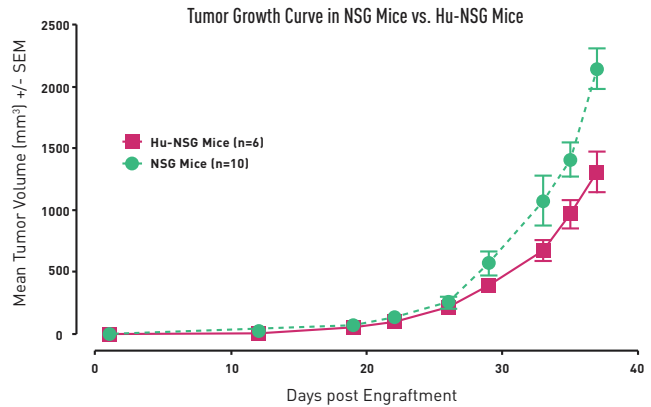
初期の実験においては、異系統であるヒトのHSCを移植された、ヒト化NSGマウスの体内において、ヒトの腫瘍が増殖するか否かについて調べた。PDX乳がん、肺がん、または肉腫をNSGマウスまたはHu-CD34-NSGマウスの皮下に移植した。Hu-CD34-NSGマウスは、HLA非適合のヒトHSCドナーに由来する、機能的に成熟したヒト免疫細胞をもっている(図4)。これら3つの腫瘍は、急速に増殖し、明確な拒絶の兆候はみられなかった。実験の終了時には、腫瘍の内部にTILが存在するか否かについて、フローサイトメトリーで解析した。興味深いことに、3つの腫瘍すべてにおいて、ヒトCD4+およびCD8+T細胞が検出された。しかし、CD19+B細胞は、ほとんど見られなかった(図5)。レシピエントHu-CD34-NSGマウスにおいて、TILが腫瘍の増殖を抑制しなかったことから、これらのT細胞はアネルギー状態に陥っていたことが示唆される。上述したように、腫瘍がヒト免疫を回避する一環として、T細胞のアネルギーをひき起こしたと考えられる。

これらの研究結果は、Hu-CD34-NSGマウスがHLA非適合腫瘍の増殖を支持することを示している。また、ヒト免疫細胞の存在は、腫瘍の生着や増殖には大きな影響を及ぼさないことも示された。

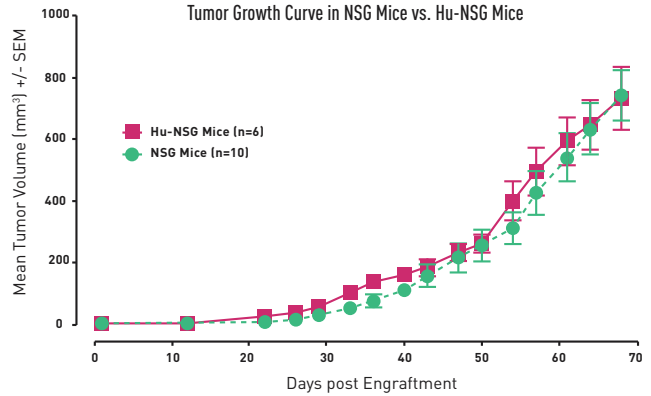
図4. ヒト免疫細胞の存在はヒト腫瘍の増殖には影響を及ぼさない

[A] ヒト乳がん (TM00090)、[B] 肺がん (TM00213)、および[C] 肉腫 (TM00381) PDXは、NSGレシピエントおよびヒト化NSGレシピエントにおいて同様の速さで増殖した。PDX腫瘍は、ドナー造血細胞のHLAとは非適合である。ジャクソン研究所JAX® *In Vivo*ファーマコロジー・サービスのデータ。

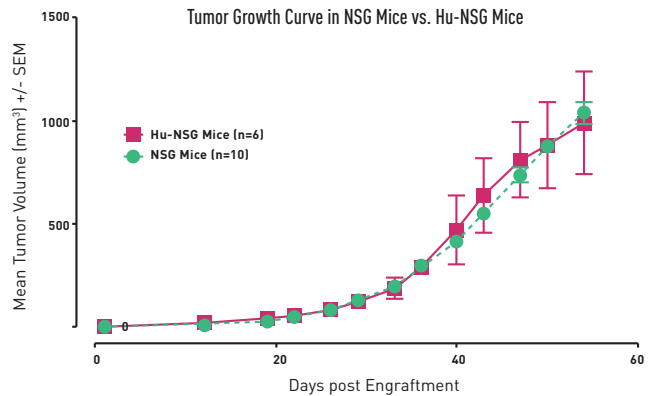
### A. Breast

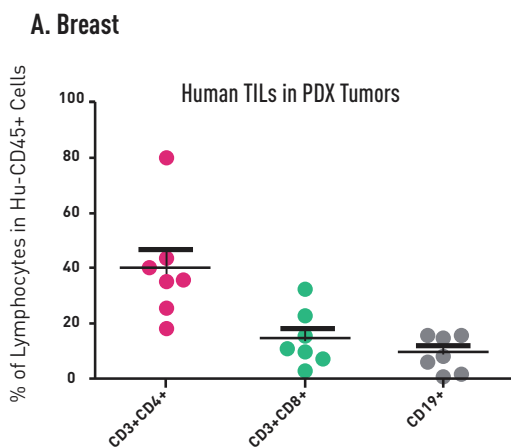


### B. Lung



### C. Sarcoma

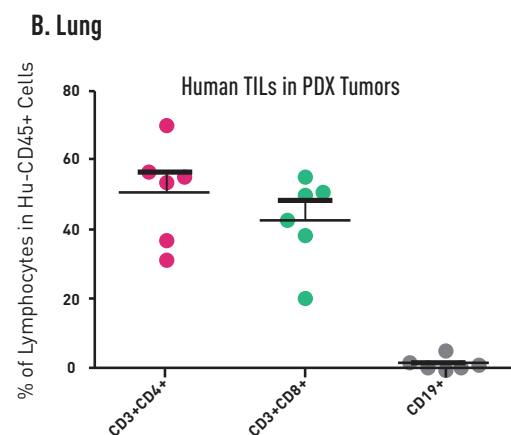




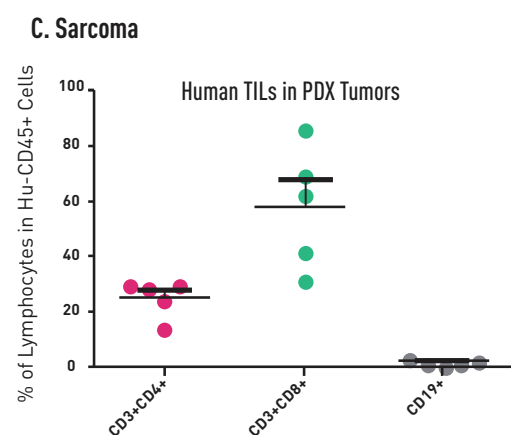
**図5. Hu-CD34-NSGマウスの体内で増殖したPDX腫瘍の中には腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) が含まれている**

[A] ヒト乳がん (TM00090)、[B] 肺がん (TM00213)、および[C] 肉腫 (TM00381) PDXの中には、CD4+およびCD8+T細胞が含まれているが、CD19+B細胞はほとんど含まれていない。TILの存在は、腫瘍の増殖に影響を及ぼさないようである。ジャクソン研究所JAX® *In Vivo*ファーマコロジー・サービスのデータ。

## オンコ-Huマウスに移植したヒト腫瘍は治療に反応する



ヒト化NSGマウスは、HLA非適合のヒト腫瘍を体内において増殖させることができる。このことは、前臨床試験のための本プラットフォームを開発するうえにおいて、重要な発見であった。つぎに、われわれは、ヒト化NSGマウスに生着した腫瘍が臨床における標準的な治療法 (SOC) に反応するか否かについて調べた。さらに、免疫チェックポイント阻害薬が、生着したヒト免疫細胞の抗腫瘍応答を再活性化することができるか否かについて調べた。



最初の実験においては、異系統のヒト乳がんPDX腫瘍片をHu-CD34-NSGマウスまたはHu-CD34-NSG-SGM3マウスに移植した。この乳がん細胞は、フローサイトメトリーによって、56.9%の細胞がPD-L1細胞表面抗原を発現していることが示された。つぎに、ヒト乳がん細胞を移植したマウスに、溶媒、SOC (シスプラチンまたはドキシソルピシン)、もしくはPD-1阻害薬 (キートルーダ) を投与した (図6.)。シスプラチン、ドキシソルピシン、もしくはキートルーダは、溶媒 (対照) に比較して、有意に腫瘍増殖を抑えた。これらの実験結果は、SOCおよび新たな免疫療法とともに、腫瘍を移植したHu-CD34-NSGマウスまたはHu-CD34-NSG-SGM3マウスにおいて、効果がみられたことを示している。

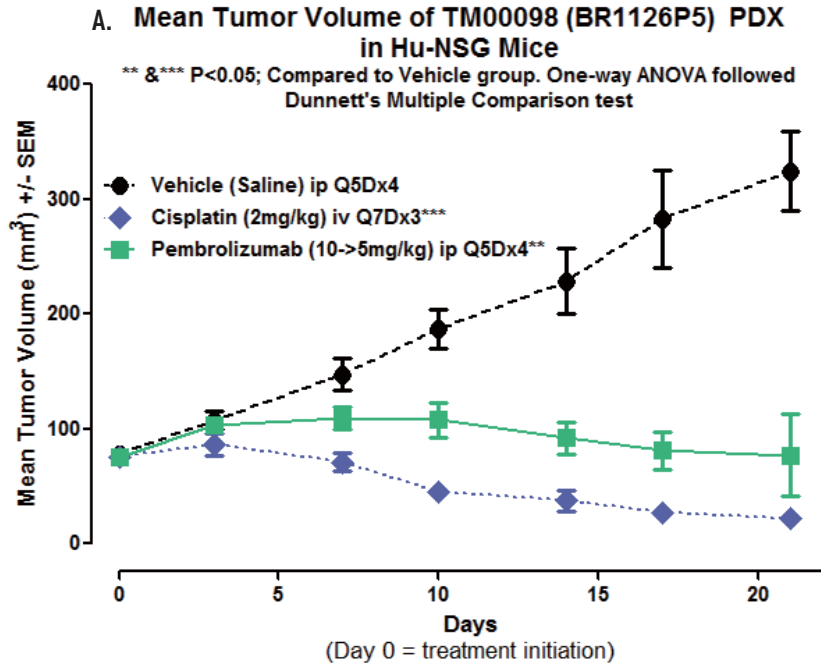
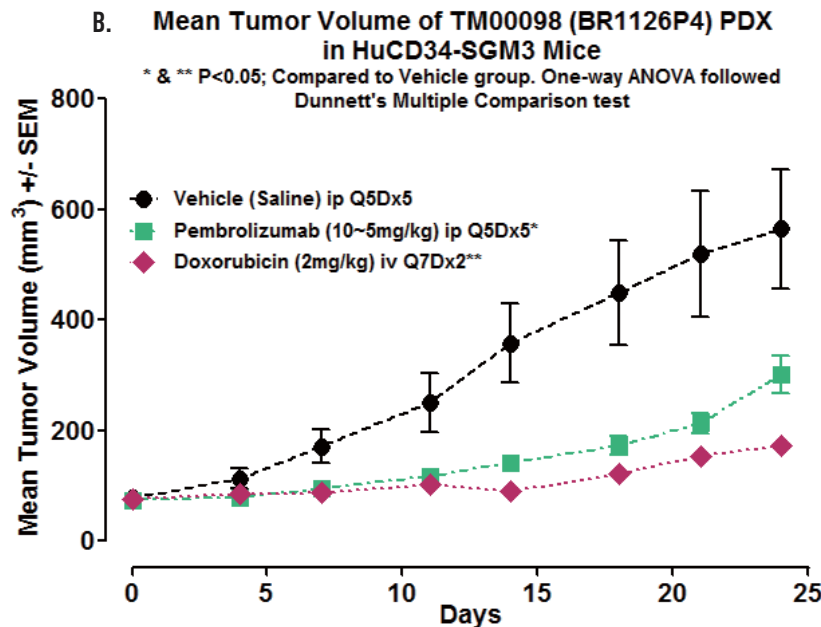


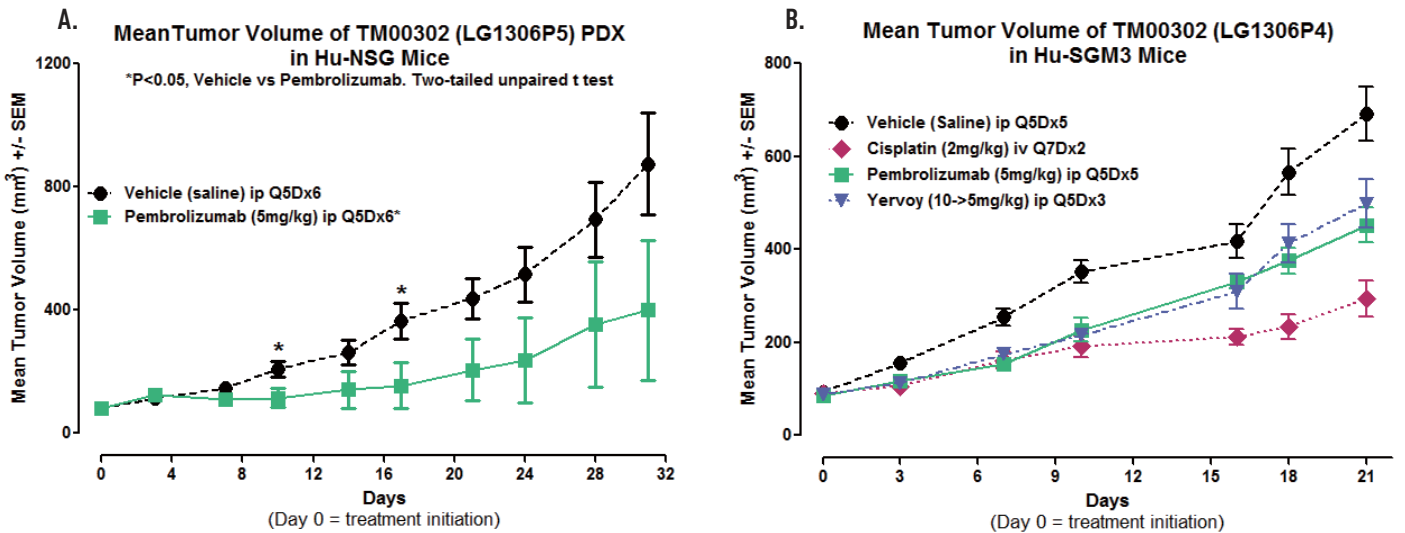
図6. PD-L1を発現している異系統PDXトリプルネガティブ乳がんは標準的な治療法およびキートルーダに反応する

Hu-CD34-NSG マウス [A] または Hu-CD34-NSG-SGM3 マウス [B] において増殖させたヒトPDX乳がん (モデルTM00098) を標準的な治療 (シスプラチンまたはドキソルビシン; 図参照) またはキートルーダで処置した。対称群には、溶媒を投与した。P<0.05 一元配置分散分析をおこなった後、Dunnettの多重比較検定をおこなった。



異系統のヒト非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer: NSCLC）PDX腫瘍片を用いて同様の実験をおこなった。この肺癌細胞は、フローサイトメトリーによって、89.1%の細胞がPD-L1細胞表面抗原を発現していることが示された（図7）。このPDX腫瘍をHu-CD34-NSGマウスまたはHu-CD34-NSG-SGM3マウスに移植し、その後、溶媒、SOC、キートルーダ、もしくはCTLA-4阻害薬ヤーボイを投与した。前の実験と同様に、溶媒（対照）と比較して、SOCおよび免疫チェックポイント阻害薬は、腫瘍の増殖を有意に抑制した。Hu-CD34-NSGマウスにおいては、実験終了後にNSCLC PDX腫瘍を採取し、免疫蛍光法によって解析した。キートルーダで処置した腫瘍には、CD8+T細胞が浸潤していた。このことは、腫瘍の退縮が細胞傷害性T細胞によって媒介されているのかもしれないことを示している（データは示していない）。

総合すると、これらの実験は、Hu-CD34-NSGマウスまたはHu-CD34-NSG-SGM3マウスに移植したヒト腫瘍は、標準的な化学療法に反応することを示している。しかし、さらにもっと重要な知見は、移植された腫瘍がヒト免疫を回避するらしいということである。これらの腫瘍のドナーである患者の体内においても、同様のことが起こっているのだ。さらに、免疫チェックポイント阻害薬で処置すると、T細胞をアネルギー状態から解放し、腫瘍に対する細胞傷害性を刺激するらしい。これらはすべて、まだきわめて予備的な段階の実験であり、キートルーダで処置したマウスにおいて、TIL媒介性の細胞傷害活性が亢進していることを証明するためには、さらなる研究が必要である。それにもかかわらず、これらのデータは、Hu-CD34-NSGマウスおよびHu-CD34-NSG-SGM3マウスは、ヒト免疫細胞と腫瘍のあいだの相互作用に関する新たな知見を収集するための、そしてまた、がん免疫やがんの併用療法の研究のための有力なプラットフォームであることを明確に示している。



**図7. 異系統のヒト非小細胞肺癌（NSCLC）PDXは免疫チェックポイント阻害薬に反応し、腫瘍の中への細胞傷害性T細胞の浸潤を増加させる**

Hu-CD34-NSGマウス[A]またはHu-CD34-NSG-SGM3マウス[B]において増殖させたヒトPDX肺癌（モデルTM00302）を標準的な治療（シスプラチン）または免疫チェックポイント阻害薬（キートルーダまたはヤーボイ）で処置した。対称群には、溶媒を投与した。

## ヒト化マウス (オンコ-Hu) と PDX腫瘍を評価する

ヒト由来の造血幹細胞 (HSC) および組織を入手する手段が得にくいために、本論文に記載した貴重なヒト化動物モデルの作製や普及が大きく妨げられるかもしれない。同様に、HSCの品質も、ドナーによって大きく異なっていることが考えられる。その結果、腫瘍の生着率が大きく異なることもあるであろう。さらに最終的には、作製したヒト化マウスの品質にも大きな影響を及ぼす。科学者たちがこのヒト化モデルを容易に入手することができるように、ジャクソン研究所は、ヒト化マウスのリソースを開発した。このリソースを利用することによって、次のようなサービスが得られる。

- すぐに研究に使用することができる、在庫管理されたHu-CD34-NSGマウスおよびHu-CD34-NSG-SGM3マウスコホート（訳注：コホートとは、同じ属性または同じ外的条件におかれた集団のことである。）の迅速な出荷
- ヒト末梢血単核球を移植したNSGマウス（Hu-PBMC NSGマウスおよびHu-PBMC NSG-SGM3マウス）
- PDX腫瘍を移植したオンコ-Huマウス、ヒト化NSGマウスおよびヒト化NSG-SGM3マウス
- ジャクソン研究所の*In Vivo*サービス部門の科学者が実施するオーダーメイドの薬剤有効性試験

Hu-PBMC NSGマウスおよびHu-PBMC NSG-SGM3マウスについては、ヒト腫瘍の増殖に関する実験をおこなっていないものの、急性骨髄性白血病 (AML) やその他の白血病のような侵襲性の高い血液がんの免疫療法を開発する際には、他のヒト化マウスモデルと同

様に重要なプラットフォームとなるであろう (Theocharides *et al.*, 2016)。ジャクソン研究所が提供するヒト化マウスは、クライアントの施設に直接輸入することが可能であり、通常の1-2週間の順化期間を経た後、実験に使用することができる。移植するヒトHSCについては、微生物検査をして、HIV、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、およびリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) が陰性であることを確認している。

さらに、ジャクソン研究所は、米国内の25のがんクリニックと提携している。この提携によって、他のいかなる商業用PDX保管機関よりも多くのさまざまなタイプの、患者由来の異種腫瘍片を、初期の継代段階において入手することができる。現在のところ、400以上のユニークなPDX腫瘍モデルが高度免疫不全NSGマウス系統において確立されている (図8.)。これらのPDX腫瘍は、未治療の患者ならびに治療抵抗性の患者の両グループから得られている。継代初期の一次ヒト腫瘍片を移植されたNSGマウス体内のヒト腫瘍は、ヒト患者において典型的にみられる、遺伝的および表現型に関する不均一性を保持している。このことは、他のPDX宿主にくらべて、大きな利点である。この前臨床試験のためのプラットフォームを用いることによって、がん患者を治療するための新たな治療法の有効性をさらに正確に予測することができるようになるであろう。



## 新たな免疫療法を利用して 有効性試験を実施する

ジャクソン研究所は、NSGマウスまたはヒト化NSGマウスに移植したすべてのPDX腫瘍モデルの実験コホートをクライアントに提供することができる。あるいは、ジャクソン研究所のPh.D.の教育訓練を受けた主任研究者が、これらのマウスモデルを使用して、ジャクソン研究所の施設において、標準化された有効性試験または完全にオーダーメイドの有効性試験を実施することもできる。われわれが実施する、がんの予備実験またはがん免疫実験における典型的な有効性試験には、単一薬剤または複数薬剤の投与、用量-反応関係解析、あるいは化合物耐性試験などが含まれる。クライアントが腫瘍モデルを選択するのを助けるために、PDX腫瘍に関する詳細な情報を、「マウス腫瘍生物学」(“Mouse Tumor Biology”) ウェブサイト ([tumor.informatics.jax.org](http://tumor.informatics.jax.org)) 上の「患者由来の異種移植片検索フォーム」(“Patient Derived Xenograft Search Form”) に記載した。

免疫細胞を利用してがんと闘うというアイデアは新しいものではない。しかし、臨床において、がん免疫療法が大変革をもたらす可能性があることを科学者たちが示したのは、わずかこの2-3年のあいだのことである (Mueller 2015)。現時点では、がん免疫療法に反応するのは、がん患者の一部のみである。その理由を理解することが重要である。担癌ヒト化NSGマウスおよび担癌ヒト化NSG-SGM3マウスは、この急速に進展している分野において、未解決の問題に取り組むための前臨床試験における貴重なプラットフォームである。

- 1) どのようなタイプの腫瘍が免疫療法に最もよく反応するのだろうか？ その基本的なメカニズムはなんだろうか？
- 2) 個々の患者にとって、最善の治療法の組み合わせをどのようにして決定すればよいのだろうか？
- 3) 免疫療法や免疫調節薬に対する抵抗性の背後にあるメカニズムはなんだろうか？
- 4) 免疫療法に対する抵抗性をどのように予測して、そして防ぐことができるのだろうか？

新たな知見によって、既存の治療法がさらに改善され、そして新たなアプローチを開発するための道が着実に開かれるのであろう。

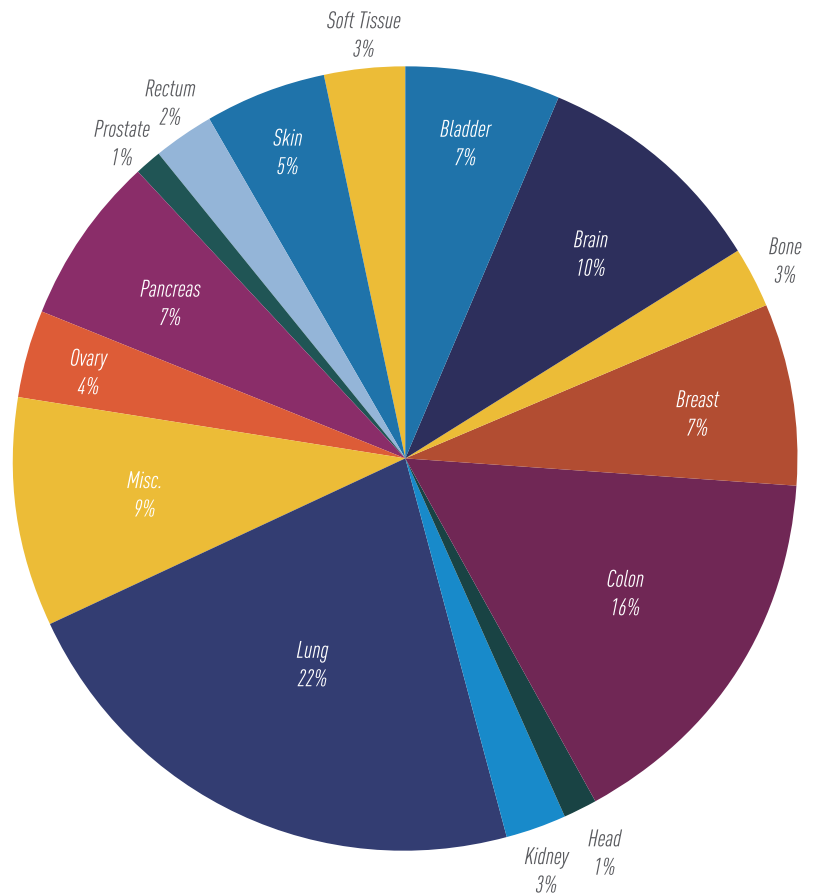


図8. ジャクソン研究所が提供しているPDX腫瘍のタイプ

400以上の継代初期段階の腫瘍を収集し、NSGマウス体内において増殖させた。それぞれの腫瘍の遺伝子発現、遺伝子欠失、およびコピー数変異を調べた。増殖特性および組織像も提供している。

## 文献

- Ahmadzadeh, M., *et al.* (2009). "Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired." *Blood* 114(8): 1537-1544. PMID: 19423728
- Baitsch, L., *et al.* (2011). "Exhaustion of tumor-specific CD8(+) T cells in metastases from melanoma patients." *J Clin Invest* 121(6): 2350-2360. PMID: 21555851
- Beavis P. A., *et al.* (2015). "Reprogramming the tumor microenvironment to enhance adoptive cellular therapy." *Semin Immunol*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2015.11.003> PMID: 26611350
- Billerbeck E., *et al.* (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 IL2R $\beta$ (null) humanized mice." *Blood* 117(11):3076-86 PMID: 21252091
- Coffelt S.B., de Visser K.E. (2015). "Immune-mediated mechanisms influencing the efficacy of anticancer therapies." *Trends Immunol*. 36(4):198-216. PMID: 25857662
- Coughlan, A. M., *et al.* (2012). "Humanised mice have functional human neutrophils." *J Immunol Methods* 385(1-2): 96-104. PMID: 22917930
- Dai, H., *et al.* (2016), "Chimeric antigen receptors modified T-cells for cancer therapy." *J Natl Cancer Inst* Jan 27;108(7). PMID: 26819347
- Gabrilovich, D. I., *et al.* (2012). "Coordinated regulation of myeloid cells by tumours." *Nat Rev Immunol* 12(4): 253-268. PMID: 22437938
- Gandini, S., *et al.* (2016) "PD-L1 expression in cancer patients receiving anti PD-1/PD-L1 antibodies: A systematic review and meta-analysis." *Crit Rev Oncol Hematol* S1040-8428(16)30025-7. PMID: 26895815
- Hamid, O., *et al.* (2013). "Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma." *N Engl J Med* 369(2): 134-144. PMID: 23724846
- Ishikawa, F., *et al.* (2005). "Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor  $\gamma$  chain(null) mice." *Blood* 106(5): 1565-1573. PMID: 15920010

- John L. B., *et al.* (2013). "Blockade of PD-1 immunosuppression boosts CAR T-cell therapy." *Oncoimmunology* 2(10):e26286. PMID: 24353912
- Laszlo, G. S., *et al.* (2014). "Cellular determinants for preclinical activity of a novel CD33/CD3 bispecific T-cell engager (BiTE) antibody, AMG 330, against human AML." *Blood* 123(4): 554-561. PMID: 24311721
- Mestas, J. and C. C. Hughes (2004). "Of mice and not men: differences between mouse and human immunology." *J Immunol* 172(5): 2731-2738. PMID: 14978070
- Miller J.F., Sadelain M. (2015). "The Journey from Discoveries in Fundamental Immunology to Cancer Immunotherapy." *Cancer Cell* 27(4):439-449. PMID: 25858803
- Mueller K.L. (2015). "Realizing the Promise". *Science* 348(6230):55.
- Nishimura, H., *et al.* (1999). "Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor." *Immunity* 11(2): 141-151. PMID: 10485649
- Ostrand-Rosenberg, S., *et al.* (2014). "The programmed death-1 immune-suppressive pathway: barrier to antitumor immunity." *J Immunol* 193(8): 3835-3841. PMID: 25281753
- Ostuni R., *et al.* (2015). "Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications." *Trends Immunol* 36(4):229-239. PMID: 25770924
- Palucka, K. and Banchereau J. (2012). "Cancer immunotherapy via dendritic cells." *Nat Rev Cancer* 12(4): 265-277. PMID: 22437871
- Pardoll, D. M. (2012). "The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy." *Nat Rev Cancer* 12(4): 252-264. PMID: 22437870
- Pauken K. E. and Wherry E. J. (2015). "Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer." *Trends Immunol* 36(4):265-276. PMID: 25797516
- Rangarajan, A. and Weinberg R. A. (2003). "Opinion: Comparative biology of mouse versus human cells: modelling human cancer in mice." *Nat Rev Cancer* 3(12): 952-959. PMID: 14737125
- Restifo, N. P., *et al.* (2012). "Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response." *Nat Rev Immunol* 12(4): 269-281. PMID: 22437939

- Rezvani K. and Rouse R. H. (2015). "The Application of Natural Killer Cell Immunotherapy for the Treatment of Cancer." *Front Immunol* 6:578 PMID: 26635792
- Rosenberg S. A. and Restifo N. P. (2015). "Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer." *Science* 348(6230):62-8. PMID: 25838374
- Rosenberg, S. A., *et al.* (2011). "Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy." *Clin Cancer Res* 17(13): 4550-4557. PMID: 21498393
- Sharma P. and Allison J. P. (2015). "Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential." *Cell* 161(2):205-14. PMID: 25860605
- Stone J. D., *et al.* (2012). "A sensitivity scale for targeting T cells with chimeric antigen receptors (CARs) and bispecific T-cell Engagers (BiTEs). *Oncoimmunology* 1(6):863-873. PMID: 23162754
- Strowig, T., *et al.* (2010). "Human NK cells of mice with reconstituted human immune system components require preactivation to acquire functional competence." *Blood* 116(20): 4158-4167. PMID: 20671122
- Theocharides A. P. *et al.* (2016) "Humanized hemato-lymphoid system mice". *Haematologica* (101): 5-19; PMID: 26721800
- Tanaka, S., *et al.* (2012). "Development of mature and functional human myeloid subsets in hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2rgammaKO mice." *J Immunol* 188(12): 6145-6155. PMID: 22611244
- Vanneman, M. and Dranoff G. (2012). "Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment." *Nat Rev Cancer* 12(4): 237-251. PMID: 22437869
- Vivier, E., *et al.* (2012). "Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer." *Nat Rev Immunol* 12(4): 239-252. PMID: 22437937
- Wolchok, J. D., *et al.* (2013). "Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma." *N Engl J Med* 369(2): 122-133. PMID: 23724867
- Wunderlich, M., *et al.* (2010). "AML xenograft efficiency is significantly improved in NOD/SCID-IL2RG mice constitutively expressing human SCF, GM-CSF and IL-3." *Leukemia* 24(10):1785-8. PMID: 20686503

ノート



## 連絡先

JAX<sup>®</sup> Mice, Clinical & Research Services  
610 Main Street  
Bar Harbor, ME 04609  
1-800-422-6423 or 207-288-5845  
[jax.org/onco-hu](http://jax.org/onco-hu)

