

論文審査の結果の要旨

氏名 田中 聡

本論文は、新規免疫不全マウスである NOD/SCID/IL2 γ KO (NSG) マウスを用い、ヒト化マウスにおけるヒトミエロイド系細胞の分化および機能解析を試みた。NSG マウスは IL-2 受容体 γ 鎖の欠失により、NOD/SCID マウスにおいて課題であった移植片拒絶に関与する NK 細胞が存在せず、ヒト免疫細胞の高率な生着を可能とした。この NSG マウスを用いたヒト免疫系の再構築において、ヒト造血幹細胞の移植より T 細胞や B 細胞が分化し、細胞傷害活性やヒト免疫グロブリン産生能が再現されヒト化していることが報告されている。一方、自然免疫系、特にミエロイド系細胞の分化・機能に関する詳細な検証はなされていない。論文提出者は、NSG マウスへのヒト造血幹細胞移植より、自然免疫応答能を有するヒトミエロイド系細胞が組織特異的に再構成されることを示し、ヒト免疫機構の解明におけるヒト化マウスの有用性を明らかにした。以下にその要旨を示す。

1. ヒト化マウスは、セルソーターにより高度に純化した CD34⁺CD38⁻ Lineage⁻ のヒト造血幹細胞を、新生仔 NSG マウスへ移植することで作製された。移植後 4 ヶ月の NSG マウスを解析し、ヒト CD45⁺細胞の存在率が、骨髄において約 80%、脾臓では約 90%、末梢血では約 70%と高率にヒト免疫細胞へ置き換わることを示した。さらに、CD3⁺T 細胞、CD19⁺B 細胞、CD56⁺NK 細胞などヒトリンパ球系細胞だけでなく、CD33⁺ヒトミエロイド系細胞の分化を見いだした。
2. CD33⁺分画に含まれる多様なミエロイド系細胞を同定するため、3 本のレーザーを搭載したフローサイトメトリーを用いることで、最大 10 カラーを駆使した各種細胞サブセットの同時解析系を構築した。この系を用い、ヒト化マウスにおいて好中球、好酸球、好塩基球、単球/マクロファージ、樹状細胞 (cDC と pDC) およびマスト細胞が分化することを表面抗原および形態学的解析より明らかにした。
3. 各組織の解析より、骨髄では免疫応答で末梢へ動員される好中球および単球が蓄積され、脾臓では分化過程で骨髄より移行するマスト細胞が多く存在し、肺では進入物に対峙するマクロファージおよび樹状細胞が主要サブセットであるなど、マウス体内においてヒト免疫細胞が組織特異的に再構成されることを明らかにした。

4. 免疫応答能の検証において、ヒト化マウスにおけるヒトミエロイド細胞は、IFN- γ 、G-CSF、GM-CSF および M-CSF 受容体の発現が、正常ヒト臍帯血のミエロイド細胞と同等であることを示した。これらサイトカイン受容体を介した細胞レベルでの応答として、IFN- γ 刺激による STAT1、G-CSF による STAT3、GM-CSF による STAT5 のリン酸化を証明し、サイトカイン刺激に応じたシグナル伝達系が働くことを示した。さらに、*in vivo* における免疫細胞の動態として、G-CSF 投与により骨髄で分化したヒトミエロイド細胞が末梢血へと動員されることを確認し、細胞および個体レベルにおいてヒト化マウスのヒトミエロイド細胞が的確なサイトカイン応答能を有することを明らかにした。
5. 次に種々の微生物を認識するセンサーとなる Toll like 受容体 (TLR) の発現解析より、ヒト化マウス体内で分化したヒト単球や樹状細胞等において TLR2、TLR4 の発現を確認した。また、TLR4 に対するアゴニストである LPS のヒト化マウスへの投与により、マウス血漿中において、ミエロイド系の炎症性サイトカインであるヒト TNF、ヒト IL-6、ヒト IL-8 の上昇を確認し、個体レベルでの感染免疫応答解析におけるヒト化マウスの応用の可能性を示唆した。
6. さらに、自然免疫系において重要な機能である貪食能を蛍光粒子の取り込みにより評価し、ヒト化マウスの骨髄および肺におけるミエロイド細胞は、効率よく蛍光粒子を細胞内に取りこむことを確認した。貪食能を用いたサルモネラ菌の感染実験において、ヒト化マウスの骨髄で分化したヒトマクロファージは、IFN- γ の刺激により、貪食したサルモネラ菌に対する殺菌能を向上させることを示した。

以上、本論文は、ヒト化マウスという *in vivo* の評価系において、ヒト造血幹細胞より組織特異的にヒトミエロイド系細胞が分化し、機能することを明らかにした。これにより獲得免疫系だけでなく、感染応答初期に重要な役割を果たす自然免疫系においても、ヒト化マウスが分子レベル、細胞レベル、そして個体レベルでのヒト免疫機構の解明において、有用なシステムであることが明らかにした。

なお、本研究は数名研究者との共同で行ったものであるが、論文提出者が主体となって実験計画立案・推進および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できるものと認める。