

## 論文の内容の要旨

氏名：都 築 広

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：免疫系ヒト化 IE-HLA-DRA\*0101/HLA-DRB1\*0405 transgenic NOD/Shi-scid,IL-2R $\gamma$ KO マウスを利用した新たな慢性 graft versus host disease モデルの検討

近年、慢性移植片対宿主病 chronic graft versus host disease（以下慢性 GVHD）の研究において免疫系ヒト化マウスを利用した xenograft animal model が注目されている。慢性 GVHD では液性免疫系が病態の形成に関与することが指摘されているが、既報の免疫系ヒト化マウスを利用したモデルでは液性免疫系に関連する所見を再現できていない。

IE-HLA-DRA\*0101/HLA-DRB1\*0405 transgenic NOD/Shi-scid,IL-2R $\gamma$ KO（以下 HLA-DR4 Tg NOG）マウスを利用した免疫系ヒト化マウスは液性免疫系の再構築が良好であり、液性免疫系の検討が可能な新たな慢性 GVHD モデルに応用できる可能性がある。本研究では免疫系ヒト化 HLA-DR4 Tg NOG マウスにおいて液性免疫系が病態に関与する慢性 GVHD 様変化が起きるかどうかを検討した。

磁気細胞分離を利用して HLA-DRB1\*0405 陽性臍帯血から CD34 陽性細胞を分離した。分離した CD34 陽性細胞を週齢 8~16 週の HLA-DR4 Tg NOG マウス 13 頭（雄 7 頭、雌 6 頭）に  $5.8 \times 10^4 \sim 2.1 \times 10^5$ /頭の細胞数で尾静脈注射した。細胞移植前に放射線照射を行っていない。移植後 26 週まで身体徴候の有無を観察した。観察期間終了後に解剖し、皮膚、肺、肝臓、消化管、脾臓を組織学的に検討した。移植後 26 週時の末梢血を使用して血清ヒト免疫グロブリン濃度や抗核抗体（間接蛍光抗体法）を測定し、液性免疫系に関する項目を検討した。

観察期間中、免疫系ヒト化 HLA-DR4 Tg NOG マウス 13 頭全てに身体徴候を認めなかった。13 頭中 9 頭（雄 3 頭、雌 6 頭）の末梢血および脾臓内でヒト T 細胞への良好な分化が確認され（ヒト T 細胞分化良好群）、9 頭中 6 頭（雄 1 頭、雌 5 頭）の皮膚、肝臓、肺に CD4 優位ヒト T 細胞浸潤を認めた。ヒト T 細胞浸潤を認めた 6 頭全ての脾臓内でヒトマクロファージ凝集および細胞貪食像（tingible body macrophage）がみられ、ヒト T 細胞浸潤と脾臓内マクロファージの所見に関連性を認めた（ $p < 0.05$ ）。ヒト T 細胞への良好な分化が確認された 9 頭において、ヒト T 細胞浸潤所見の陽性群（ $n=6$ ）は陰性群（ $n=3$ ）と比較して移植後 26 週時の血清ヒト IgM 濃度が有意に高かった（ $p < 0.01$ ）。ヒト T 細胞分化良好群 9 頭中 6 頭の血清中に辺縁型あるいは均質型の染色パターンを示す抗核抗体が検出された。

免疫系ヒト化 HLA-DR4 Tg NOG マウスでは造血幹細胞移植後 26 週の時点で皮膚、肺、肝臓に CD4 優位ヒト T 細胞浸潤が起り、脾臓における B 細胞活性化や自己抗体の出現など液性免疫系が病態の形成に関与する所見を認めており、既報の免疫系ヒト化マウスを利用したモデルでは再現することができなかった液性免疫系に関連する所見を示すことができた。本研究の結果から、免疫系ヒト化 HLA-DR4 Tg NOG マウスを液性免疫系の検討が可能な新たな慢性 GVHD モデルに応用できると考えられた。