

## 論文の内容の要旨

氏名：佐野 太一

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：IL-2 受容体 $\gamma$ 鎖欠損免疫不全ブタを用いたヒト細胞 *in vivo* 造腫瘍性試験：  
モデル確立とヒト脱分化脂肪細胞(DFAT)の移植安全性評価

【目的】*in vivo* 造腫瘍性試験は、免疫不全動物にヒト細胞を移植し、動物の体内で増殖する造腫瘍性細胞を検出することを目的とした試験である。現在、*in vivo* 造腫瘍性試験には、主に NOG マウスといった重度免疫不全を呈するマウスが用いられている。一方、マウスは体重、サイズ、寿命、臓器の構造などがヒトと大きく異なるため、よりヒトに近い大動物を使った試験系の確立が求められている。ブタは生理学的及び解剖学的にヒトとの類似性が高いため、よりヒトに近い医学研究ツールとして期待できる。本研究では、近年開発されたインターロイキン-2(IL-2)受容体 $\gamma$ 鎖を欠損させた重度免疫不全ブタ(IL2rg 欠損ブタ)にヒトがん細胞(Hela 細胞)を移植し、その生着や腫瘍性増殖を検討した。そしてこの IL2rg 欠損ブタが、ヒト細胞加工製品の *in vivo* 造腫瘍性試験に利用できる研究用モデル動物となりうるか検証した。さらに現在、血管再生治療用細胞として開発が行われているヒト脱分化脂肪細胞(dedifferentiated fat cells: DFAT)を現在実施している臨床試験と同様の投与方法で IL2rg 欠損ブタに移植し、その腫瘍形成性の有無を解析した。

【方法】Hela 細胞移植実験は、IL2rg 欠損ブタに対し、Hela 細胞（高用量:  $1 \times 10^7$  個, 低用量:  $1 \times 10^6$  個）を皮下移植又は筋肉内移植した。細胞移植 1 週間後または 1 ヶ月後に安楽死させた後、移植筋肉部位および主要臓器（心臓、腎臓、肺臓、肝臓、脾臓、膵臓）を摘出し、肉眼的、組織学的評価を行った。DFAT 造腫瘍性試験では、IL2rg 欠損ブタに対し、ヒト DFAT ( $1 \times 10^6$  個 /0.25ml) を浅殿筋内に 1cm 間隔で 20 箇所(合計  $2 \times 10^7$  個)を筋肉内に移植した。陰性対照としてヒト線維芽細胞を同様の方法で移植した。細胞移植 1 か月後に移植筋肉部位および主要臓器を摘出し、肉眼的、組織学的評価を行い、造腫瘍性の有無を評価した。

【結果】IL2rg 欠損ブタに Hela 細胞を移植すると、皮下移植、筋肉内移植共に拒絶されず、移植 1 週間後から移植部位に腫瘍形成を示すことが明らかになった。DFAT 造腫瘍性試験では、移植 1 ヶ月の時点において移植筋肉組織および主要遠隔臓器に腫瘍形成は認められなかった。陰性対照である線維芽細胞を移植したブタも同様に腫瘍形成は観察されなかった。以上の結果より臨床試験と同じ投与部位、細胞数、投与経路に従い投与されるヒト DFAT は、腫瘍形成することなく安全に筋肉内投与できることが示された。

【結論】IL2rg 欠損ブタは、既存の免疫不全マウスの欠点を補完し、移植ヒト細胞の造腫瘍性をより臨床プロトコルに近い形で評価できる動物モデルとなりうることが示唆された。