

論文内容要旨

Development of a humanized mouse model to analyze antibodies specific for human leukocyte antigen (HLA)

(ヒト白血球抗原特異的抗体解析ヒト化マウス
モデルの作製)

PLoS One,16(2):e0236614,2021.

主指導教員：大段 秀樹教授
(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：安達 伸生教授
(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：田中 友加准教授
(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

柳川 泉一郎
(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

臓器移植では、様々な形態のヒト白血球抗原(HLA)が認識されるため、HLA 適合性が重要である。HLA ミスマッチの移植片は、細胞を介した免疫応答の活性化を誘導し、拒絶反応を引き起こす。しかし、レシピエントとドナー間の HLA は異なる場合が多く、ドナー特異的抗 HLA 抗体 (DSA) による同種移植片拒絶は移植治療の成績に影響しており、移植前の免疫抑制療法や抗体スクリーニング検査の進歩にもかかわらず、抗体関連型拒絶反応の免疫学的メカニズムは、現在のところ解明されていない。臓器移植の長期予後を改善するための新しい免疫療法の開発および DSA 分泌細胞を効果的に調節する治療法を開発するには、ヒト免疫担当細胞における DSA 産生の根底にあるメカニズムを解明が必要である。心臓移植のマウスモデルでは、脾臓と骨髄に DSA 分泌細胞が存在することが証明されたが、ヒト-ヒト間では、証明されていない。一般的に、動物モデルで成功した免疫療法は、種固有の違いのため、必ずしもヒトへ応用可能とは限らないため、ヒトの細胞を用いた *in vivo* モデルによる証明が望ましい。

近年、免疫不全マウスに機能的なヒトの生細胞を生着させた「ヒト化マウスモデル」が開発された。このモデルには、免疫不全マウスに様々な種類のヒト細胞や組織などが含まれ、ヒトの免疫システムの解明を含めた多くの基礎研究に応用されてきた。しかし、現在のところ DSA 産生メカニズムを解明可能なヒト化マウスモデルは、確立されていない。われわれは、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を重症免疫不全である NSG マウスへ投与して、ヒトの B 細胞や T 細胞を含む免疫担当細胞を再構築することにより、ヒト化マウスモデルを用いて、DSA 産生メカニズムを解明する *in vivo* モデルの確立を試みた。

HLA の異なる 2 種類 (Responder 側と放射線照射施行した Stimulator 側) のヒト PBMC を単純に NSG マウスへ投与するだけでは、抗 HLA 抗体産生は全く認められなかった。マウスの体内にあるマウスの抗体産生促進因子は、ヒトの免疫担当細胞に不応性であることが要因と考えられた。そこで、ヒトの抗体産生促進因子による直接的な刺激が必要と考え、T 細胞と B 細胞の間の CD40-CD40ligand の相互作用に着目した。ヒトの CD40ligand (h-CD40L) を発現しているマウス繊維芽細胞上で、HLA の異なる 2 種類 (Responder 側と放射線照射施行した Stimulator 側) のヒト PBMC を *in vitro* 下で、3 日間混合培養し、3 日後に全ての細胞を回収して、NSG マウスへ投与した (day 0)。翌日に同じ Stimulator の PBMC (放射線照射施行) で、NSG マウスに免疫を行い (day 1)、day 7,14,21,28,35 にマウスから採血し、human-total IgG を計測した。Human-total IgG が最高値であった血清で、抗 HLA 抗体価を計測したところ、Stimulator 側の HLA と異なる非特異的な抗 HLA 抗体が多く産生され、特異的な抗 HLA 抗体の産生はほとんど認められなかった。

*In vitro*での培養条件に対して、h-CD40Lを発現しているマウス繊維芽細胞へ、ヒトのB細胞活性化因子(h-BAFF)の遺伝子移入を行い、同様の実験を行ったが、Stimulator側のHLAと異なる非特異的な抗HLA抗体が多く産生される同様の傾向であった。また、マウス繊維芽細胞にh-BAFFの遺伝子導入は行わず、Responder側のヒトPBMCから制御性T細胞(T-reg)を除去してから、同様の実験を行ったが、やはり同様の傾向の結果であった。

これらの結果より、われわれが作製したヒト化マウスモデルでは、同種異系抗原非特異的抗体産生が観察された。このマウスモデルは、BAFF-BAFF受容体シグナル伝達やT-regの調節機構とは独立した抗原特異的B細胞のみを寛容に誘導できる*in vivo*モデルとして有用である可能性が示唆された。(1398字)